



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
INSTITUTO DE PESQUISA EM FÁRMACOS E MEDICAMENTOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUTOS NATURAIS
E SINTÉTICOS BIOATIVOS



EDILEUZA BEZERRA DE ASSIS

ESTUDO FITOQUÍMICO E ABORDAGEM SOBRE A ATIVIDADE LARVICIDA
DE *Helicteres eichleri* K. SCHUM (STERCULIACEAE) FRENTE A *Aedes aegypti* L.
(DIPTERA: CULICIDAE)

JOÃO PESSOA - PB

2019

EDILEUZA BEZERRA DE ASSIS

**ESTUDO FITOQUÍMICO E ABORDAGEM SOBRE A ATIVIDADE LARVICIDA
DE *Helicteres eichleri* K. SCHUM (STERCULIACEAE) FRENTE A *Aedes aegypti* L.
(DIPTERA: CULICIDAE)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, do Centro de Ciências da Saúde, da Universidade Federal da Paraíba, como requisito para obtenção do título de Mestre em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos. Área de concentração: Farmacoquímica.

ORIENTADORA: PROF^a. DR^a. MARIA DE FÁTIMA VANDERLEI DE SOUZA

JOÃO PESSOA - PB

2019

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

A848e Assis, Edileuza Bezerra de.

Estudo fitoquímico e abordagem sobre a atividade larvívica de *Helictes Eichleri* K. Schum (Sterculiaceae) frente a *Aedes Aegypti* L. (Diptera: Culicidae) / Edileuza Bezerra de Assis. - João Pessoa, 2019.

117 f. : il.

Orientação: Maria de Fátima Vanderlei de Souza.
Dissertação (Mestrado) - UFPB/CCS.

1. Estudo fitoquímico. 2. Sterculiaceae. 3. Triterpenos. 4. Dengue. I. Souza, Maria de Fátima Vanderlei de. II. Título.

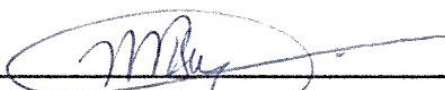
UFPB/BC

EDILEUZA BEZERRA DE ASSIS


**ESTUDO FITOQUÍMICO E ABORDAGEM SOBRE A ATIVIDADE LARVICIDA
DE *Helicteres eichleri* K. SCHUM (STERCULIACEAE) FRENTE A *Aedes aegypti* L.
(DIPTERA: CULICIDAE)**

Aprovada em: 19 de fevereiro de 2019

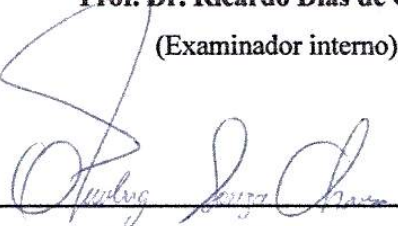
BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr.ª Maria de Fátima Vanderlei de Souza
(Orientadora)



Prof. Dr. Ricardo Dias de Castro
(Examinador interno)



Prof. Dr. Otemberg Souza Chaves
(Examinador externo)

JOÃO PESSOA - PB

2019

Dedico este trabalho a Deus, aos meus pais Erivaldo Bezerra (in memorian) e Jacinta Leite, aos meus irmãos Janeyde Bezerra e Joaquim Batista e a minha tia Edileuza Farias, minha eterna gratidão.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela minha fé constante e fonte de toda a coragem e motivação para superar as dificuldades.

À minha mãe **Jacinta Leite**, meu pai **Erivaldo Bezerra** (*in memoriam*) e aos meus irmãos **Janeyde Bezerra** e **Joaquim Batista de Farias**, que estiveram sempre presentes com seu amor e apoio incondicional em todos os momentos de minha vida.

Aos meus amigos, que foram sem dúvidas, fundamentais nessa fase, sempre demonstrando cuidado e carinho, em especial: **Azamor Cirne, Denner Alípio, Isis Luna, Laura Freitas, Paula Mariane e Sandra Luna.**

A todos que fizeram e fazem parte da equipe da Prof^a Dr.^a Maria de Fátima Vanderlei, pelo acolhimento e enriquecedora convivência científica e de amizade: **Ana Laura Cabral, Diégina Fernandes, Denise Maria, Fernando Leite, Janderson Albuquerque, Mikaelly Oliveira, Millen Maria e Sallett Rocha.**

Aos técnicos e funcionários do Instituto de Pesquisa em Fármacos e Medicamentos e do Programa de Pós-graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, pela competência e apoio, em especial: **Caroline Manguiera, Glória, Lúcia, Manoel, Nilmar Medeiros, Roseane Malheiros e Raimundo Nonato.**

À Prof^a Dr.^a **Maria de Fátima Vanderlei de Souza**, pela confiança em mim depositada, pela orientação precisa e segura concedida, a contribuição ao meu crescimento pessoal e profissional, sem a qual jamais concluiria esse sonho.

À Prof.^a Dr.^a **Fabiola da Cruz Nunes** por sua contribuição na parte biológica deste trabalho e pela paciência em transmitir seus conhecimentos.

À Prof.^a Dr.^a **Yanna Carolina Ferreira Teles** e Instituto de Farmácia e Ciências Biomédicas da Faculdade de Ciências da Universidade de Strathclyde pela colaboração ao estudo.

Ao Prof. Dr. **Leonardo Pessoa Felix** pela coleta e identificação botânica da espécie vegetal estudada.

À Prof.^a Dr.^a **Danielly Albuquerque da Costa**, por toda dedicação, auxílio e companheirismo desde a graduação.

Aos meus ex-professores, por terem contribuído para minha formação acadêmica.

This work was conducted during a scholarship supported by the International Cooperation Program CAPES/COFECUB at the Federal University of Paraíba. Financed by

CAPES – Brazilian Federal Agency for Support and Evaluation of Graduate Education within the Ministry of Education of Brazil.

“O preço de qualquer coisa é a quantidade de vida que você troca por isso”.

(Henry David Thoreau)

RESUMO

ASSIS, E. B. **Estudo fitoquímico e abordagem sobre a atividade larvicida de *Helicteres eichleri* K. Schum (Sterculiaceae) frente a *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae).** 117 p. Dissertação (Mestrado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos) – Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2019.

Desde os primórdios da existência humana, populações de todo o mundo vem utilizando produtos naturais com fins medicinais e difundindo esses conhecimentos por gerações. Na contemporaneidade, com os avanços da ciência, intensifica-se o interesse de pesquisadores que buscam nas plantas medicinais a descoberta de novas substâncias bioativas. No cenário mundial, o Brasil se destaca como um dos países com maiores perspectivas para exploração sustentável de sua biodiversidade, uma vez que é detentor da maior diversidade de espécies vegetais do mundo. Nesse contexto, a importância das pesquisas sobre espécies vegetais que se apresentam como fontes naturais de combate aos vários estágios do mosquito *Aedes aegypti*, principal vetor responsável pela transmissão dos vírus da dengue, zika, chikungunya e febre amarela. Essa busca por inseticidas naturais, oriundos de recursos renováveis, rapidamente degradáveis, menos prejudiciais para o meio ambiente e para a saúde humana, e o estudo do uso da espécie *Helicteres velutina* na medicina indígena contra picadas de insetos, levou-nos a isolar e identificar os constituintes químicos, como também avaliar o potencial larvicida contra o *Aedes aegypti* da espécie *Helicteres eichleri* K. Schum (Sterculiaceae), conhecida popularmente no Brasil como “fumo-de-macaco”. Através de um estudo pioneiro do ponto de vista fitoquímico e biológico do extrato etanólico bruto obtido das partes aéreas desta espécie e utilizando técnicas cromatográficas e espectroscópicas, foram isoladas e identificadas, respectivamente, as substâncias: decanol (*He-1*), ácido rosmarínico (*He-2*), uma mistura do β -sitosterol e estigmasterol (*He-3a* e *He-3b*), lupeol (*He-4*), uma mistura dos ácidos 3- α -hidróxi-urs-12-en-28-óico e 3- α -hidróxi-olean-12-en-28-óico (*He-5a* e *He-5b*) e uma mistura dos ácidos micromérico e ursólico (*He-6a* e *He-6b*). Uma abordagem preliminar, a partir da exposição das larvas no estágio L4 de *Aedes aegypti* a diferentes concentrações do extrato etanólico bruto das partes aéreas de *Helicteres eichleri*, demonstrou promissora atividade larvicida. Segundo as análises estatísticas, em 24 e 48 horas de exposição, a concentração de 20mg/mL foi capaz de matar 92,5% e 93,3% das larvas, respectivamente. A CL₅₀ foi calculada em 4,4 mg/mL para o intervalo de 24 horas e após 48 horas registrou uma CL₅₀ de 3,73 mg/mL, caracterizando-se como uma alternativa favorável a ser utilizada em um sistema de controle integrado desse vetor.

Palavras-chave: Estudo fitoquímico. Sterculiaceae. Triterpenos. Dengue.

ABSTRACT

ASSIS, E. B. **Phytochemical study and approach on the larvicidal activity of *Helicteres eichleri* K. Schum (Sterculiaceae) against *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae).** 117 p. Dissertation (Masters in Natural and Synthetic Bioactive Products) - Health Science Center, Federal University of Paraíba, João Pessoa, 2019.

Since the dawn of human existence, populations around the world have been using natural products for medicinal purposes and spreading this knowledge for generations. In contemporary times, with the advances of science, the interest of researchers who seek in the medicinal plants the discovery of new bioactive substances has been intensified. In the world scenario, Brazil stands out as one of the countries with the greatest prospects for the sustainable exploitation of its biodiversity, since it holds the greatest diversity of plant species in the world. In this context, we emphasize the importance of research on plant species that present themselves as natural sources to combat the various stages of the *Aedes aegypti* mosquito, the main vector responsible for the transmission of dengue, zika, chikungunya and yellow fever viruses. This search for natural insecticides from renewable resources that are rapidly degradable, less damaging to the environment and human health, and the study of the use of *Helicteres velutina* in indigenous medicine against insect bites have led us to isolate and identify the chemical constituents, as well as to evaluate the larvicidal potential against *Aedes aegypti* of the species *Helicteres eichleri* K. Schum (Sterculiaceae), popularly known in Brazil as "monkey smoke". Through a chemical and biological pioneer study of the crude ethanolic extract obtained from the aerial parts of this species and using chromatographic and spectroscopic techniques, substances were isolated and identified, respectively: decanol (*He-1*), rosmarinic acid (*He-2*), a mixture of β -sitosterol and stigmasterol (*He-3a* and *He-3b*), lupeol (*He-4*), a mixture of 3- α -hydroxy-urs-12-en-28-oic and 3- α -hydroxy-olean-12-en-28-oic (*He-5a* and *He-5b*), a mixture of micromeric acid and ursolic acid (*He-6a* and *He-6b*). A preliminary approach, based on the exposure of the larvae in the L4 stage of *Aedes aegypti* to different concentrations of the crude ethanolic extract from the aerial parts of *Helicteres eichleri*, demonstrated promising larvicidal activity. After 24 and 48 hours of exposure, the concentration of 20mg/mL was able to kill 92.5% and 93.3% of the larvae, respectively. The LC₅₀ was calculated at 4.4 mg/mL for the 24-hour interval, and, using the Tukey's test model, after 48 hours of exposure, LC₅₀ was 3.73 mg/mL, thus characterizing a favorable alternative to be used in an integrated control system of this vector.

Key-words: Phytochemical study. Sterculiaceae. Triterpenes. Dengue.

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E FÓRMULAS

ANOVA:	Análise de Variância
APG:	Angiosperma Phylogeny Group
APT:	Attached Proton Test
C₅D₅N:	Piridina Deuterada
CC:	Cromatografia em coluna
CCDA:	Cromatografia em Camada Delgada Analítica
CD₃OD:	Metanol deuterado
CDCl₃:	Clorofórmio deuterado
CH₂Cl₂:	Diclorometano
CL₅₀:	Concentração Letal Média
d:	Dupleto
dd:	Duplo dupleto
DENV:	Dengue
DMSO-<i>d</i>₆:	Dimetilsulfóxido deuterado
EEB:	Extrato Etanólico Bruto
EtOH:	Etanol
FN:	Falso negativo
FP:	Falso positivo
H₂O:	Água
HMBC:	Heteronuclear Multiple Bond Spectroscopy
HMQC:	Heteronuclear Multiple Quantum Coherence Spectroscopy
Hz:	Hertz
<i>J</i>:	Constante de acoplamento
L1, L2, L3, L4:	Estágios larvais do <i>Aedes aegypti</i>
LAPAVET:	Laboratório de Biotecnologia Aplicada a Parasitas e Vetores
<i>m</i>:	<i>meta</i>
m:	Multiplete
MeOH:	Metanol
MHz:	Megahertz
mL:	Mililitro
<i>n</i>-BuOH:	<i>n</i> -butanol
<i>o</i>:	<i>orto</i>

p: *para*

ppm: Partes Por Milhão

RMN ¹³C: Ressonância Magnética Nuclear de Carbono treze

RMN ¹H: Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio

s: Simpleto

t: Tripleto

δ: Deslocamento químico em ppm

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1. Sistemática da família Sterculiaceae	28
Esquema 2. Obtenção do EEB de <i>Helicteres eichleri</i>	43
Esquema 3. Cromatografia líquido-líquido do EEB das partes aéreas de <i>Helicteres eichleri</i>	44
Esquema 4. Fracionamento cromatográfico da fase hexânica do EEB das partes aéreas de <i>Helicteres eichleri</i>	46
Esquema 5. Fracionamento cromatográfico da fração B da fase hexânica do EEB das partes aéreas de <i>Helicteres eichleri</i>	47
Esquema 6. Fracionamento cromatográfico da fase <i>n</i> -butanólica do EEB das partes aéreas de <i>Helicteres eichleri</i>	48

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Distribuição geográfica mundial da família Malvaceae s.l representada pelas aéreas em verde e cinza.	26
Figura 2. Distribuição geográfica mundial da família Sterculiaceae representada pelas aéreas em verde e cinza.	27
Figura 3. Distribuição geográfica mundial do gênero <i>Helicteres</i> representada pelas aéreas em verde e cinza.	29
Figura 4. Alguns constituintes químicos isolados de espécies do gênero <i>Helicteres</i> , citados no Quadro 1.	31
Figura 5. Distribuição geográfica da espécie <i>Helicteres eichleri</i> representada pelas aéreas em amarelo.	35
Figura 6. <i>Helicteres eichleri</i> K. Schum.	36
Figura 7. Ciclo de vida do <i>Aedes aegypti</i>	38
Figura 8. Modelo experimental de suscetibilidade das larvas de <i>Aedes aegypti</i> ao EEB de <i>Helicteres eichleri</i>	50
Figura 9. Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de <i>He-1</i>	55
Figura 10. Expansão do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de <i>He-1</i> na região entre 1,90 e 0,75 ppm.	56
Figura 11. Espectro de RMN ^{13}C - APT (δ , CDCl_3 , 100 MHz) de <i>He-1</i>	56
Figura 12. Espectro de RMN ^1H (δ , $\text{DMSO}-d_6$, 500) de <i>He-2</i>	62
Figura 13. Expansão do espectro de RMN ^1H (δ , $\text{DMSO}-d_6$, 500) de <i>He-2</i> na região entre 6,75 e 7,20 ppm.	62
Figura 14. Expansão do espectro de RMN ^1H (δ , $\text{DMSO}-d_6$, 500) de <i>He-2</i> na região entre 6,51 e 6,69 ppm.	63
Figura 15. Expansão do espectro de RMN ^1H (δ , $\text{DMSO}-d_6$, 500) de <i>He-2</i> na região entre 2,83 e 3,03 ppm.	63
Figura 16. Expansão do espectro de RMN ^1H (δ , $\text{DMSO}-d_6$, 500) de <i>He-2</i> na região entre 4,90 e 7,48 ppm.	64
Figura 17. Espectro de RMN ^{13}C -APT (δ , $\text{DMSO}-d_6$, 125) de <i>He-2</i>	64
Figura 18. Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT (δ , $\text{DMSO}-d_6$, 125) de <i>He-2</i> na região entre 140 e 173 ppm.	65
Figura 19. Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT (δ , $\text{DMSO}-d_6$, 125) de <i>He-2</i> na região entre 82 e 134 ppm.	65

Figura 20. Espectro HMBC (δ , DMSO- d_6 , 500 e 125) de <i>He-2</i>	66
Figura 21. Expansão do espectro HMBC (δ , DMSO- d_6 , 500 e 125) de <i>He-2</i>	66
Figura 22. Expansão do espectro HMBC (δ , DMSO- d_6 , 500 e 125) de <i>He-2</i>	67
Figura 23. Espectro HMBC (δ , DMSO- d_6 , 500 e 125) de <i>He-2</i>	67
Figura 24. Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de <i>He-3</i>	72
Figura 25. Espectro de RMN ^{13}C -APT (δ , CDCl_3 , 100 MHz) de <i>He-3</i>	72
Figura 26. Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de <i>He-4</i>	77
Figura 27. Expansão do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de <i>He-4</i> na região entre 0,75 e 1,75 ppm.	77
Figura 28. Expansão do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de <i>He-4</i> na região entre 4,66 e 4,94 ppm.	78
Figura 29. Espectro de RMN ^{13}C -APT (δ , CDCl_3 , 100 MHz) de <i>He-4</i>	78
Figura 30. Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT (δ , CDCl_3 , 100 MHz) de <i>He-4</i> na região entre 14,2 e 28,1 ppm.	79
Figura 31. Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT (δ , CDCl_3 , 100 MHz) de <i>He-4</i> na região entre 90 e 165 ppm.	79
Figura 32. Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT (δ , CDCl_3 , 100 MHz) de <i>He-4</i> na região entre 74,5 e 87,5 ppm.	80
Figura 33. Espectro de RMN ^1H (δ , DMSO- d_6 , 400 MHz) de <i>He-5</i>	85
Figura 34. Expansão do espectro de RMN ^1H (δ , DMSO- d_6 , 400 MHz) de <i>He-5</i> na região entre 4,75 e 5,35 ppm.	85
Figura 35. Espectro de RMN ^{13}C -APT (δ , DMSO- d_6 , 100 MHz) de <i>He-5</i>	86
Figura 36. Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT (δ , DMSO- d_6 , 100 MHz) de <i>He-5</i> na região entre 116,0 e 166,0 ppm.	86
Figura 37. Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT (δ , DMSO- d_6 , 100 MHz) de <i>He-5</i> na região entre 68,0 e 101,0 ppm.	87
Figura 38. Espectro de RMN ^1H (δ , $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 400 MHz) de <i>He-6</i>	93
Figura 39. Expansão do espectro de RMN ^1H (δ , $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 400 MHz) de <i>He-6</i> na região entre 0,60 e 1,40 ppm.	93
Figura 40. Expansão do espectro de RMN ^1H (δ , $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 400 MHz) de <i>He-6</i> na região entre 3,25 e 4,10 ppm.	94
Figura 41. Expansão do espectro de RMN ^1H (δ , $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 400 MHz) de <i>He-6</i> na região entre 2,55 e 3,30 ppm.	94

Figura 42. Expansão do espectro de RMN ^1H (δ , $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 400 MHz) de <i>He-6</i> na região entre 4,36 e 4,88 ppm.	95
Figura 43. Espectro de RMN ^{13}C -APT (δ , $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 100 MHz) de <i>He-6</i>	95
Figura 44. Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT (δ , $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 100 MHz) de <i>He-6</i> na região entre 120,0 e 156,0 ppm.	96
Figura 45. Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT (δ , $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 100 MHz) de <i>He-6</i> na região entre 164,0 e 183,0 ppm.	96
Figura 46. Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT (δ , $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 100 MHz) de <i>He-6</i> na região entre 16,0 e 56,0 ppm.	97
Figura 47. Atividade larvícida das diferentes concentrações do EEB de <i>H. eichleri</i> sobre <i>Ae. aegypti</i> , após 24 (a) e 48 (b) horas de exposição.	100

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Alguns constituintes químicos isolados do gênero <i>Helicteres</i> relatados na literatura.	30
Quadro 2. Substâncias isoladas das partes aéreas de <i>Helicteres eichleri</i> K. Schum.....	57

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Dados comparativos de RMN ^1H e ^{13}C da substância <i>He-1</i> (δ , CDCl_3 , 400 e 100 MHz) com o modelo da literatura Mo-1 (δ , CDCl_3 , 400 e 100 MHz) (FERNANDES et al., 2018).....	55
Tabela 2. Dados comparativos de RMN ^1H e ^{13}C da substância <i>He-2</i> (δ , $\text{DMSO-}d_6$, 500 e 125 MHz) com o modelo da literatura Mo-1 (δ , $\text{DMSO-}d_6$, 500 e 125 MHz) (GOHARI et al., 2009).	60
Tabela 3. Compilação dos dados de RMN ^1H e ^{13}C , HSQC e HMBC de <i>He-2</i> (δ , $\text{DMSO-}d_6$, 500 e 125 MHz).....	61
Tabela 4. Dados comparativos de RMN ^1H e ^{13}C das substância <i>He-3a</i> e <i>He-3b</i> (δ , CDCl_3 , 400 e 100 MHz) com os modelos da literatura Mo-1 (δ , CDCl_3 , 400 e 100 MHz) (RASHED et al., 2014) e Mo-2 (δ , CDCl_3 , 500 e 125 MHz) (FORGO; KÖVÉR, 2004).	70
Tabela 5. Dados comparativos de RMN ^1H e ^{13}C da substância <i>He-4</i> (δ , CDCl_3 , 400 e 100 MHz) com os modelos da literatura Mo-1 (δ , CDCl_3 , 200 e 50 MHz) (SILVA et al., 2017) e Mo-2 (δ , CDCl_3 , 300 e 75 MHz) (MIRANDA, GARCEZ, GARCEZ, 2015).	75
Tabela 6. Dados comparativos de RMN ^1H e ^{13}C das substâncias <i>He-5a</i> e <i>He-5b</i> (δ , $\text{DMSO-}d_6$, 400 e 100 MHz) com os modelos da literatura Mo-1 (δ , CDCl_3 , 200 e 50 MHz) (BERRONDO et al., 2003) e Mo-2 (δ , CDCl_3 , 500 e 125 MHz) (WOLDEMICHAEL et al., 2003).....	83
Tabela 7. Dados comparativos de RMN ^1H e ^{13}C das substâncias <i>He-6a</i> e <i>He-6b</i> (δ , $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 400 e 100 MHz) com os modelos da literatura Mo-1 (δ , CD_3OD , 600 e 150 MHz) (ALTINIER et al., 2007) e Mo-2 (δ , $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 300 e 75 MHz) (UDDIN et al., 2011).	90
Tabela 8. Dados comparativos de RMN de ^{13}C de <i>He-6</i> (δ , $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 100 MHz) com os modelos da literatura Mo-1 (δ , CD_3OD , 600 e 150 MHz) (ALTINIER et al., 2007) e (δ , $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 300 e 75 MHz) (UDDIN et al., 2011).	92
Tabela 9. Avaliação da mortalidade (%) de larvas no quarto estágio do <i>Aedes aegypti</i> frente a diferentes concentrações do EEB das partes aéreas de <i>H. eichleri</i>	99

SUMÁRIO

RESUMO

ABSTRACT

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E FÓRMULAS

LISTA DE ESQUEMAS

LISTA DE FÍGURAS

LISTA DE QUADROS

LISTA DE TABELAS

1 INTRODUÇÃO	18
2 OBJETIVOS	21
2.1 Objetivo Geral	22
2.2 Objetivos Específicos	22
3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	23
3.1 Importância de estudos com Produtos Naturais	24
3.2 Aspectos gerais sobre a família Malvaceae <i>sensu lato</i>	25
3.3 Aspectos gerais sobre a família Sterculiaceae	27
3.4 Aspectos gerais sobre o gênero <i>Helicteres</i>	29
3.5 Aspectos gerais sobre a espécie <i>Helicteres eichleri</i> K. Schum.	35
3.7 Aspectos gerais sobre <i>Aedes aegypti</i> L.	37
3.7.1 Ciclo de vida e arboviroses transmitidas pelo <i>Aedes aegypti</i> L.	37
3.7.2 Principais formas de combate do vetor	39
4 METODOLOGIA	40
4.1 Levantamento bibliográfico	41
4.2 Coleta e Identificação do Material Vegetal	41
4.3 Estudo fitoquímico	41
4.3.1 Isolamento e purificação dos constituintes químicos de <i>Helicteres eichleri</i>	41
4.3.2 Caracterização estrutural das substâncias isoladas	42
4.3.3 Processamento do material vegetal	42
4.3.4 Obtenção do Extrato Etanólico Bruto das partes aéreas de <i>Helicteres eichleri</i>	42
4.3.5 Fracionamento cromatográfico do Extrato Etanólico Bruto das partes aéreas de <i>Helicteres eichleri</i>	43
4.3.6 Processamento cromatográfico da fase hexânica do EEB das partes aéreas de <i>Helicteres eichleri</i>	43

4.3.7 Processamento cromatográfico da fase <i>n</i> -butanólica do EEB das partes aéreas de <i>Helicteres eichleri</i>	45
4.6 Bioensaios	48
4.6.1. Obtenção das larvas de <i>Aedes aegypti</i>	48
4.6.2 Ensaio da atividade larvicida do extrato etanólico bruto de <i>H. eichleri</i>	49
4.6.3 Análise estatística	50
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	51
5.1 Substâncias isoladas das partes aéreas de <i>Helicteres eichleri</i> K. Schum	52
5.2.1 Caracterização estrutural de <i>He-1</i>	53
5.2.2 Caracterização estrutural de <i>He-2</i>	57
5.2.3 Caracterização estrutural de <i>He-3</i>	68
5.2.4 Caracterização estrutural de <i>He-4</i>	73
5.2.5 Caracterização estrutural de <i>He-5</i>	80
5.2.6 Caracterização estrutural de <i>He-6</i>	87
5.2. Abordagem sobre a atividade do EEB de <i>Helicteres eichleri</i> frente a larvas L4 de <i>Aedes aegypti</i>	97
6 CONCLUSÕES	101
REFERÊNCIAS	103

1 INTRODUÇÃO

Desde os primórdios da existência humana, populações de todo o mundo vem utilizando produtos naturais com fins medicinais e difundindo esses conhecimentos por gerações. Insere-se nesse contexto a utilização de plantas medicinais pela população para prevenção de doenças, manutenção e recuperação da saúde, levando a melhorias na sua qualidade de vida (ALMEIDA; MARTINEZ; PINTO, 2017).

O conhecimento da sociedade sobre tais utilizações desperta o interesse de pesquisadores que buscam nas plantas medicinais a descoberta de novos fármacos, constituindo uma das principais bases da Química Medicinal, conforme atestam os diversos medicamentos oriundos de substâncias de origem vegetal ou que se derivam dos seus grupos farmacofóricos (CASANOVA; COSTA, 2017).

Desta forma, a Química de produtos naturais se dedica principalmente ao isolamento, caracterização estrutural e avaliação das propriedades biosintéticas de novas moléculas proveniente do metabolismo secundário dos vegetais, que através de sua biossíntese podem fornecer compostos com inovadoras estruturas moleculares e atividades biológicas promissoras (BERLINCK et al., 2017).

Diante da grande diversidade vegetal mundial, o Brasil é em especial um dos países com maiores perspectivas para exploração econômica de sua biodiversidade, uma vez que somos detentores de inúmeras espécies nativas, excelentes condições climáticas e edáficas além de possuímos o maior potencial hídrico da terra (GUILHERMINO et al., 2012; BRASIL, 2017).

Segundo o Grupo Flora do Brasil (GFB), possuímos a maior diversidade de espécies vegetais do mundo com cerca de 46.097 espécies, sendo 43% endêmica do território nacional, porém, pequena parcela tem sido estudada no âmbito químico-biológico, permanecendo o interesse da comunidade científica em descobrir drogas vegetais que sejam efetivas contra doenças ainda sem tratamento adequado ou que possam servir como alternativas, mais seguras e menos tóxicas (ZAPPI et al., 2015).

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), a dengue, chikungunya e zika estão dentre as doenças negligenciadas que não dispõem de tratamentos eficazes ou adequados. Embora sejam típicas de países pobres e atinjam primordialmente as populações dos países em desenvolvimento, elas têm aumentado nos países desenvolvidos, gerando um impacto devastador sobre a humanidade (WHO, 2010).

Espécies vegetais apresentam-se como fontes naturais capazes de combater os vários estágios do mosquito *Aedes aegypti*, principal vetor responsável pela transmissão dos vírus da dengue, zika, chikungunya e febre amarela (ZARA et al., 2016).

Vislumbrando os grandes benefícios que as fontes vegetais podem trazer para a humanidade, pesquisas para a identificação dos metabólitos secundários são imprescindíveis para descoberta e o desenvolvimento de novos bioprodutos (BOLZANI, 2016).

A aplicação biotecnológica de extratos e metabólitos secundários isolados de plantas, não se destina apenas para a produção de medicamentos, cosméticos e produtos alimentícios. Pode-se evidenciar sua importante aplicabilidade como inseticidas naturais, oriundos de recursos renováveis, rapidamente degradáveis e menos prejudiciais para o meio ambiente e a saúde humana quando comparados aos inseticidas sintéticos (GUARDA et al., 2016).

Baseado nos conhecimentos quimiotaxonômicos e biológicos do gênero *Helicteres*, e nas informações existentes sobre o uso popular de *Helicteres velutina* como repelente contra picada de insetos (COLAÇO, 2006) e comprovação científica sobre a atividade dessa espécie sobre as larvas do *Ae. Aegypti* L. (FERNANDES et al., 2018), optou-se por realizar um estudo fitoquímico e biológico com a espécie *Helicteres eichleri* K. Schum, conhecida popularmente como “fumo-de-macaco”.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Contribuir para os conhecimentos quimiotaxonômicos e biológicos da família Sterculiaceae, através de estudos das partes aéreas da espécie *Helicteres eichleri* K. Schum.

2.2 Objetivos Específicos

- Isolar e caracterizar os metabolitos secundários de *Helicteres eichleri* através de métodos cromatográficos e espectroscópicos, respectivamente;
- Realizar abordagem exploratória sobre a atividade larvicida do extrato etanólico bruto de *Helicteres eichleri* frente as larvas do mosquito *Aedes aegypti* L. no seu quarto estágio de desenvolvimento.
- Disponibilizar extratos, frações, substâncias isoladas e caracterizadas quimicamente da espécie estudada para testes farmacológicos, no intuito de descobrir novos potenciais terapêuticos.

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 Importância de estudos com Produtos Naturais

As espécies vegetais são fontes inesgotáveis de substâncias que desempenham inúmeras funções como, protegê-las contra herbívoros, insetos e ataque de patógenos. Fatores externos como temperatura, umidade, proteção contra raios ultravioleta e deficiência de nutrientes também são considerados estímulos para a produção destes compostos (SIMÕES et al., 2010).

Os metabólitos secundários são conhecidos por serem biossintetizados em tipos celulares especializados e em distintos estágios do desenvolvimento das plantas, tornando seu isolamento mais difícil. Estes constituintes químicos são extremamente diversos e produzidos em pequenas quantidades. Cada família, gênero e espécie possui sua particularidade, caracterizando-se pela produção de uma ou mais classe de metabólitos específica, podendo ser utilizados como caracteres taxonômicos para classificação da família ou gênero (CIBELE, 2013).

As substâncias oriundas do metabolismo vegetal despertam grande interesse, não só pelas atividades biológicas desempenhadas pelas plantas em resposta aos estímulos ambientais, mas também pelos diversos efeitos farmacológicos sobre a saúde humana, estes fatos despertam a curiosidade dos pesquisadores para a busca de novas moléculas bioativas (PEREIRA; CARDOSO, 2012).

Pesquisas para a identificação dos metabólitos secundários presentes em plantas nativas da flora brasileira são fundamentais para o desenvolvimento de novos bioprodutos (PEREIRA; CARDOSO, 2012). Desta forma, torna-se imprescindível realizar estudos fitoquímicos e farmacológicos e/ou biológicos que garatam repassar para a população informações científicas em relação as atividades terapêuticas e segurança no uso de plantas medicinais (GUIZZO et al., 2015).

Um dos aspectos mais importantes que devem ser levados em consideração para iniciar um estudo fitoquímico é a seleção da espécie vegetal. Assim, várias abordagens têm sido apresentadas na literatura, destacando-se três tipos básicos: etnodirigida, quimiotaxonômica e randômica. A abordagem etnodirigida consiste na seleção da espécie de acordo com o uso terapêutico evidenciado por um determinado grupo étnico, a investigação quimiotaxonômica ou filogenética correlaciona uma dada classe de substâncias a um gênero ou família, já a abordagem randômica compreende a coleta ao acaso de plantas para triagens fitoquímicas e farmacológicas. Dentre estas, a abordagem quimiotaxonômica têm demonstrado eficácia prática na busca por substâncias naturais com propriedades biológicas (LIMA; SANTOS; LA PORTA, 2018).

A partir desses estudos, várias substâncias farmacologicamente ativas puderam ser isoladas, identificadas e utilizadas como princípio ativo para a produção de medicamentos que são utilizados para a recuperação ou cura de determinado mal (PEREIRA; CARDOSO, 2012).

Destaca-se ainda a aplicação dessas substâncias na indústria alimentar, onde apresentam elevado potencial na produção e desenvolvimento de alimentos funcionais (OLIVEIRA, 2015), fato que evidencia a importância da agregação de valor econômico aos produtos naturais e a necessidade de explorar cientificamente a promissora diversidade vegetal brasileira, ainda pouco conhecida (ELIAS; SANTOS, 2016).

Pode-se destacar o importante papel de determinadas espécies vegetais que produzem substâncias com ação larvívora e insetívora, estas propriedades tornam as espécies verdadeiros agentes de combate a arbovírus, atuando como agentes de controle vetorial com potencial ecológico para substituir insetívora sintéticos (VORIS et al., 2017).

Sendo Malvaceae, uma família com grande diversidade química e com várias espécies utilizadas na medicina tradicional, é de suma importância investigar os metabólitos secundários das suas espécies ainda não exploradas, no intuito de descobrir substâncias que contribuam na busca de possíveis aplicações que justifiquem e estimulem o uso sustentado de espécies da flora brasileira (KONNO; FERNANDES-JÚNIOR, 2017).

3.2 Aspectos gerais sobre a família Malvaceae *sensu lato*

A família Malvaceae *sensu lato* (*s.l*) há muito tempo vem sofrendo alterações no que diz respeito a sua circunscrição. No entanto, a partir de dados morfológicos e moleculares foi possível propor com mais clareza sua taxonomia e filogenética, sendo atualmente formada por representantes das famílias Sterculiaceae, Malvaceae *sensu stricto*, Bombacaceae e Tiliaceae, compreendendo a maior família da ordem Malvales (TAKEUCHI, ESTEVES, 2017).

De acordo com a última atualização do Sistema APG (*Angiosperm Phylogeny Group IV*) (2016), Malvaceae *s.l* é dividida em nove subfamílias: Malvoideae, Bombacoideae, Tilioideae, Sterculioideae, Grewioideae, Byttneirioideae, Helicterioideae, Brownlowioideae e Dombeyoideae.

Malvaceae *s.l* possui aproximadamente 225 gêneros e 4.200 espécies, disseminados em regiões predominantemente pantropicais, com ampla distribuição nas Américas, África, Europa, Ásia, Austrália e Oceania (Figura 1, p. 26) (BENJUMEA et al., 2016). No Brasil, ela está representada por 69 gêneros e 754 espécies, presentes em todos os domínios fitogeográficos. Dentre os gêneros mais numerosos compondo esta família estão *Hibiscus*

(300), *Streculia* (250), *Dombeya* (225), *Pavonia* (200), *Sida* (200), *Abutilon* (100), *Nototriche* (100), *Cristaria* (75) e *Gossypium* (40) (PORDEUS, 2016; YOSHIKAWA, DUARTE, 2017).

Figura 1. Distribuição geográfica mundial da família Malvaceae *s.l* representada pelas áreas em verde e cinza.



Fonte: Tropicos, 2018.

Diante da grande diversidade vegetal da família Malvaceae *s.l*, várias espécies são empregadas na medicina popular para a cura de doenças, fornecendo suporte para o desenvolvimento de pesquisas que comprovam seus usos populares. Nesse contexto, investigações fitoquímicas com representantes desta família identificaram a presença de triterpenos, esteroides (TELLES et al., 2014), flavonoides, alcaloides (CHAVES et al., 2017), entre outros, demonstrando a riqueza em variedade de metabólitos secundários.

Arelados ao conhecimento químico, diversos efeitos biológicos de extratos e/ou substâncias isoladas de espécies desta família foram descobertos pela comunidade científica mundial, com destaque para atividade antitumoral (SILVA et al., 2012), hipolipimante (KUO et al, 2014) anti-inflamatória (TELES et al., 2015a), leishmanicida (TELES et al., 2015b), antimicrobiana (GOMES et al., 2015), vasorelaxante (CHAVES et al., 2017), larvicida contra *Ae. Aegypti* (FERNANDES et al., 2018), entre outras.

3.3 Aspectos gerais sobre a família Sterculiaceae

Os representantes da família Sterculiaceae encontram-se inseridos em *Malvaceae s.l.*, sendo composta por quatro subfamílias: Byttnerioideae, Dombeyoideae, Helicteroideae e Sterculioideae e compreendendo diversos gêneros, como *Waltheria*, *Theobroma*, *Sterculia*, *Helicteres*, entre outros (Esquema 1, p. 28) (APG, 2016).

A família Sterculiaceae é constituída por 72 gêneros e 1.500 espécies, distribuídos principalmente em regiões tropicais e subtropicais com poucas espécies em zonas temperadas. Estima-se que no Brasil, ocorrem aproximadamente 14 gêneros e mais de 160 espécies (Figura 2) (HAMDY, SHAMSO, 2010).

Figura 2. Distribuição geográfica mundial da família Sterculiaceae representada pelas áreas em verde e cinza.



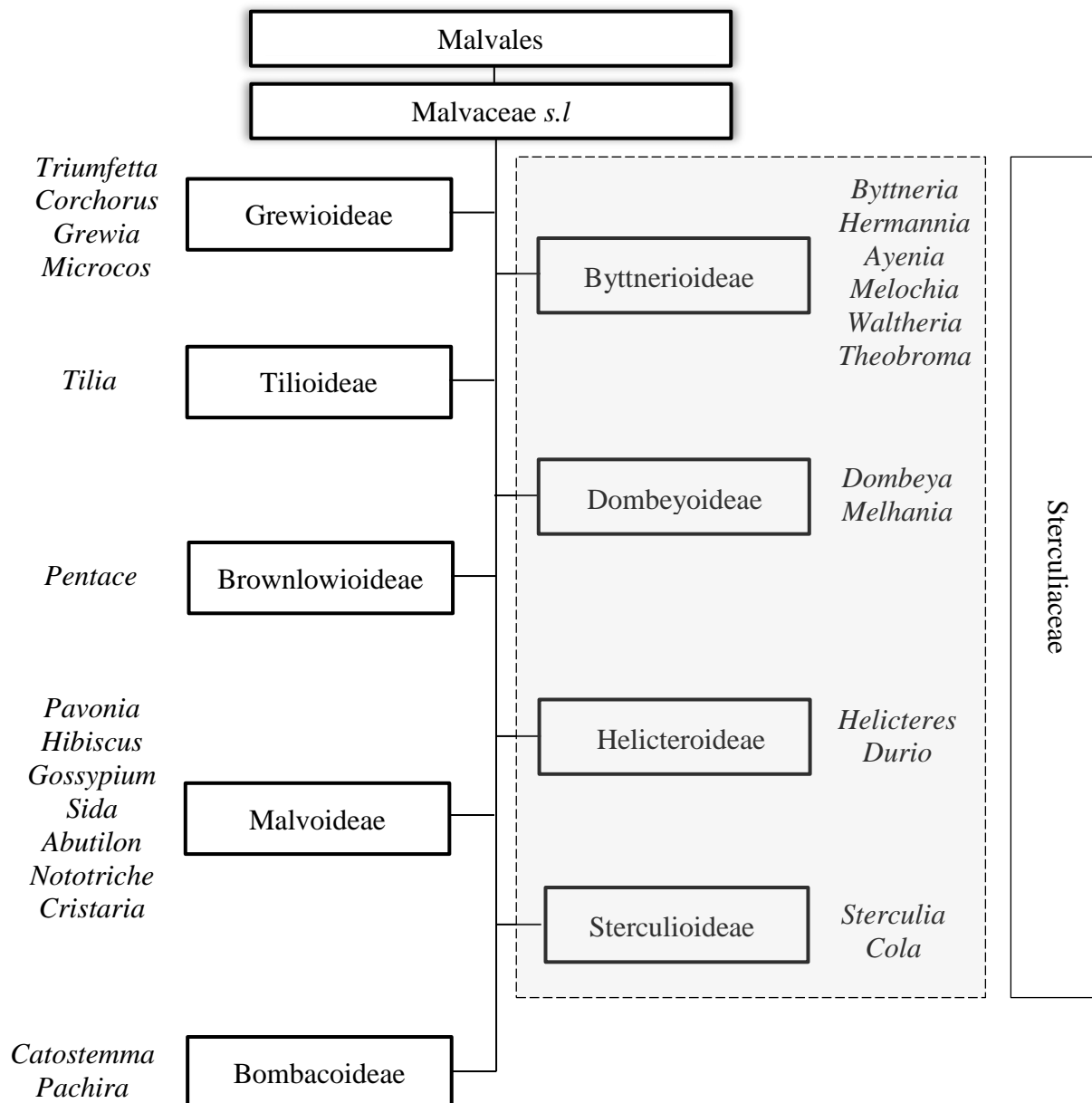
Fonte: Tropicos, 2018.

Entre as espécies com atividades farmacológicas comprovadas, citam-se *Waltheria communis* (GUARIM NETO, 2016) que possui efeito hipotensor, *Sterculia tavia* com ações contra câncer de mama, ovário e próstata (MOSTARDEIRO, 2014), e a espécie *Melochia corchorifolia* com ação hepatoprotetora, configurando a importância medicinal de alguns membros (RAO et al., 2013).

Na indústria farmacêutica destacam-se *Theobroma cacao* na produção de “manteiga de cacau”. *Guazuma ulmifolia* usada na forma de produto de beleza para combater à queda de cabelo e às infecções do couro cabeludo (ALMEIDA, 2015).

Dentre os representantes brasileiros de valor econômico expressivo na indústria de alimentos, destaca-se *Theobroma cacao* "cacaueiro", de onde se produz o chocolate e *Theobroma grandiflorum* "cupuaçu", cuja polpa dos frutos possui alto valor nutricional (MENDONÇA, 2016; FREITAS et al., 2018).

Esquema 1. Sistemática da família Sterculiaceae



Fonte: Adaptado de APG IV, 2016.

3.4 Aspectos gerais sobre o gênero *Helicteres*

O gênero *Helicteres* compõe-se de 60 espécies distribuídas principalmente em regiões tropicais da Ásia e América. Cerca de 30 espécies ocorrem e habitam em domínios fitogeográficos como Amazônia, Caatinga, Cerrado, Mata Atlântica e Pantanal (Figura 3) (SILVA et al., 2010; NGUYEN, 2017).

Figura 3. Distribuição geográfica mundial do gênero *Helicteres* representada pelas áreas em verde e cinza



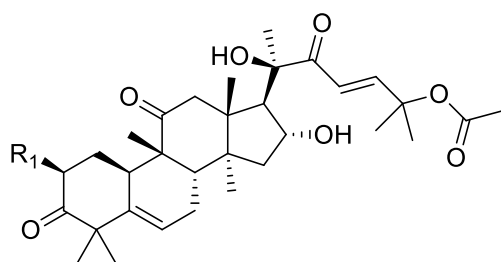
Fonte: Tropicos, 2017.

Estudos anteriores demonstraram que triterpenos, flavonoides e lignanas são as principais classes de compostos do gênero (Quadro 1, p. 30; Figura 4, p. 31) (NGUYEN, 2017). Diante desta diversidade de compostos químicos percebe-se o potencial de espécies pertencentes a este gênero, enaltecendo a importância e despertando o interesse em suas espécies que ainda não possuem relatos, sejam na área da fitoquímica ou farmacológica e/ou biológica.

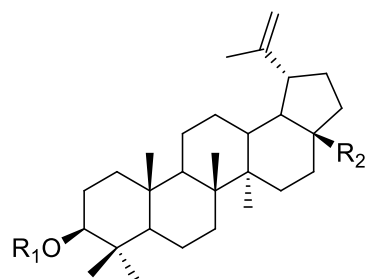
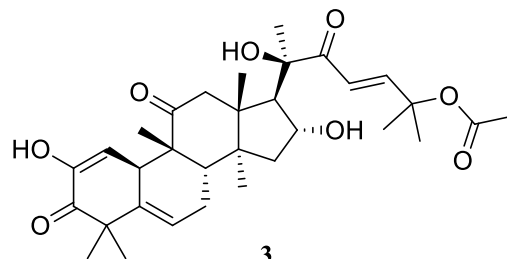
Quadro 1. Alguns constituintes químicos isolados do gênero *Helicteres* relatados na literatura.

Classe metabólica	Constituinte químico	Referências
Terpenos	Curcubitacina B (1); Cucurbitacina B 2-sulfato (2); Cucurbitacina E (3); Ácido betulínico (4); Ácido betulínico 3- β -O (trans-coumaroil) (5); Ácido piracrênico (6); Metil éster 3- β -27-diacetoxi-lup-20(29)en-28-oico (7); Ácido 3- β -hidroxi-27-benzoiloxilup-20(29)-en-28-oico (8); Isorine (9) 3- β -hidroxiolean-12-en-27-benzoiloxi-28-oato (10); Ácido 3- β -O-(p-hidroxi-(E)-cinnamoil)-12 oleanen-28-oico (11); Ácido helicterílico (12); Ácido ursólico (13); Ácido oleanólico (14).	BEAN, 1982; LIU & WANG, 1985; QU, LI, WANG, 1991; GUO et al., 2003A; CHEN et al., 2006; CHEN, LEE, CHEN, 2006; PAN et al., 2008; PAGI et al., 2010; WEI et al., 2011; HARDE et al., 2011; WANG et al., 2012; DAYAL et al., 2015; YIN et al., 2016; SU et al., 2017; HARDE & SHAH, 2017; FERNANDES et al., 2018.
Esteroides	β -sitosterol (15); β -sitosterol glicosilado (16); Heligenina A (17); Heligenina B (18).	SINGH, SINGH, THAKUR, 1984; GUO et al., 2003B; JAIN et al., 2009; WANG et al., 2012; DAYAL et al., 2015; FERNANDES et al., 2018.
Flavonoides	Canferol-3-O-galactosídeo(19); Herbacetina-8-O-glicuronídeo (20); Isoscutelareina 4'-metil éter 8-O- β -D-glicuronídeo 2''-sulfato (21); Astragalina (22); Canferol (23); Tilirosídeo (24); Hesperidina (25); Viscumsídeo A (26); Ácido metil éster 3',5,7,8-tetrahidroxi-4'-metoxiflavona-8-O- β -D-glicopiranoseduronico (27); Ácido metil éster 4',5,7,8-tetrahidroxiflavona 8-O- β -D-glicopiranoseduronico (28).	RAMESH & YUVARAJAN, 1995; QU LI, WANG, 1991; TEZUKA et al., 1999; KAMIYA et al., 2001; CHEN et al., 2006; WANG et al., 2012; YIN et al., 2016; FERNANDES et al., 2018.
Compostos fenólicos	Ácido rosmarínico (29); 3-(3,4-dimetoxifenil) -2-propenal (30); Catecol (31); Aldeído protocatecuico (32); Ácido gálico (33); Ácido cafeico (34); Ácido p-cumarico (35).	SATAKE et al., 1999; CHEN et al., 2006; WANG et al., 2012; DAYAL et al., 2015 OLIVAS-QUINTERO et al., 2017.
Lignan	Lariciresinol (36); Lirioresinol-B (37); (+/-)-medioresinol (38); (+/-)-siringaresinol (39); (7S,8R)-urolignosídeo (40); Ácool dihidrodehidrodiconiferil (41).	CHEN et al., 2006; CHIN et al., 2006; WANG et al., 2012; YIN et al., 2016.
Quinonas	8-acetil-9-hidroxi-3-metoxi-7-metil-1-fenalenona (42); Heliquinona (43); Metil éter heliquinona (44); Mansonona F (45); 6-[2-(5-acetil-2,7-dimetil-8-oxo-biciclo[4.2.0]octa-1,3,5-trien-7-il)-2-oxo-etil]-3,9-dimetilnafoto[1,8-bc]piran-7,8-dione (46).	WANG & LIU, 1987; CHEN, CHEN, HONG, 1990, CHEN et al., 2006; YIN et al., 2016; GUO et al., 2005.

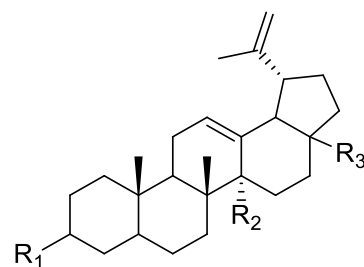
Figura 4. Alguns constituintes químicos isolados de espécies do gênero *Helicteres*, citados no Quadro 1.



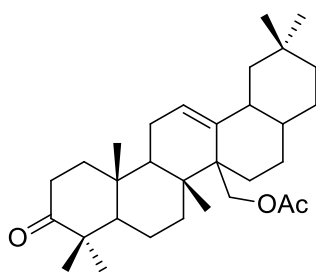
- 1: $R_1 = H$
2: $R_1 = HSO_3$



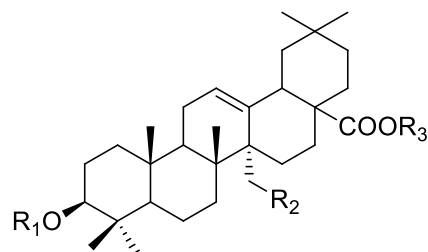
- 4: $R_1 = H$; $R_2 = COOH$
5: $R_1 = trans\text{-cumaroil}$; $R_2 = COOH$
6: $R_1 = trans\text{-cafeoil}$; $R_2 = COOH$



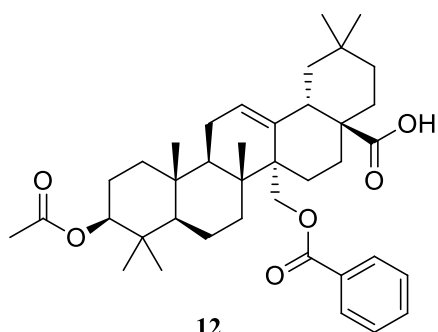
- 7: $R_1 = R_2 = OAc$; $R_3 = COOH$
8: $R_1 = OH$; $R_2 = benzoiloxi$; $R_3 = COOH$



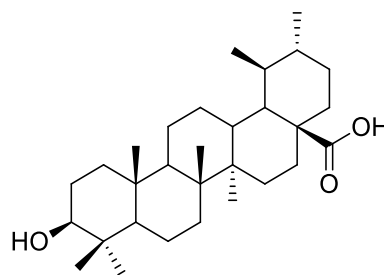
9



- 10: $R_1 = H$; $R_2 = benzoil$; $R_3 = CH_3$
11: $R_1 = cinamoil$; $R_2 = H$; $R_3 = H$



12



13

Figura 4 (continuação). Alguns constituintes químicos isolados de espécies do gênero *Helicteres*, citados no Quadro 1.

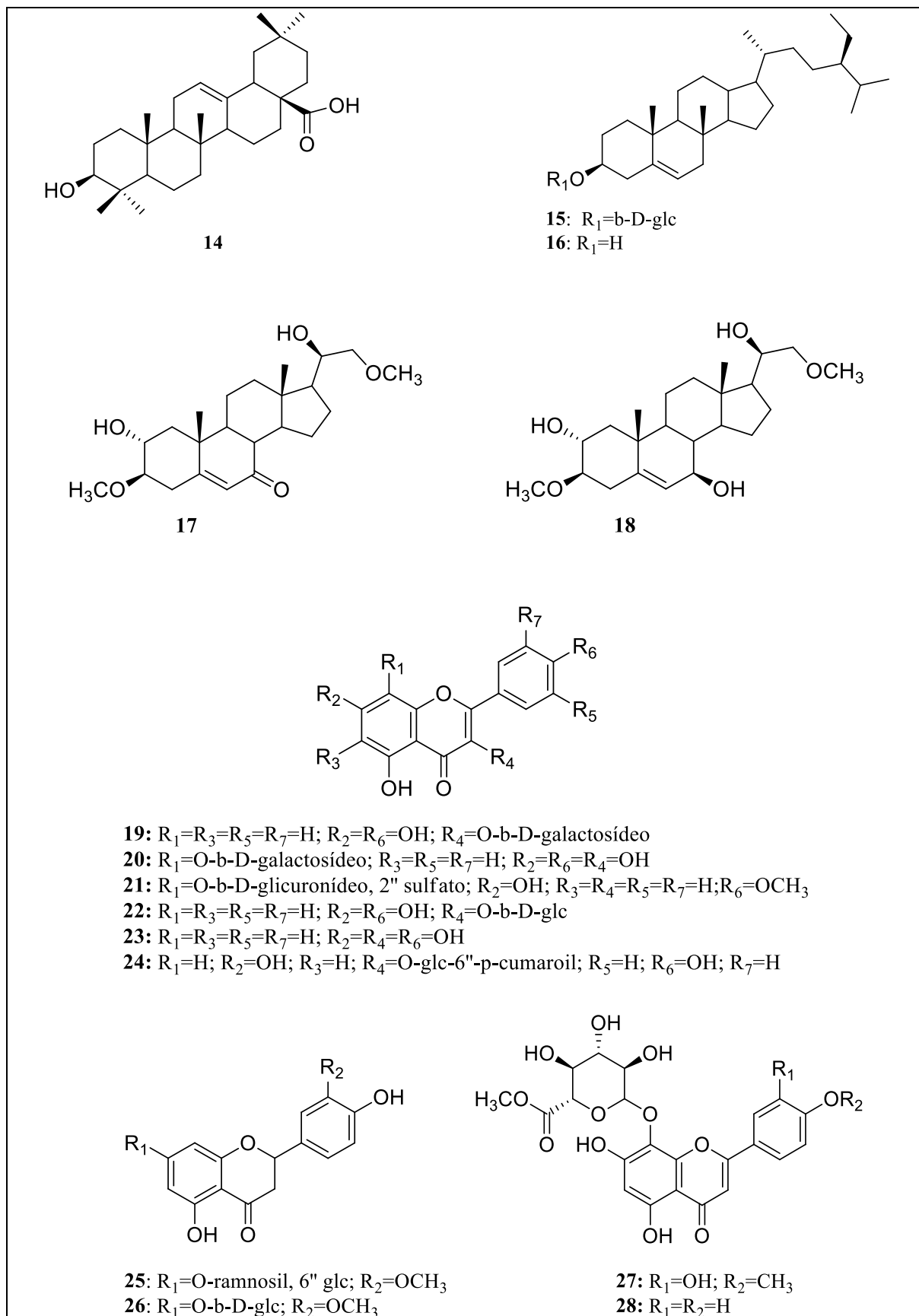


Figura 4 (continuação). Alguns constituintes químicos isolados de espécies do gênero *Helicteres*, citados no Quadro 1.

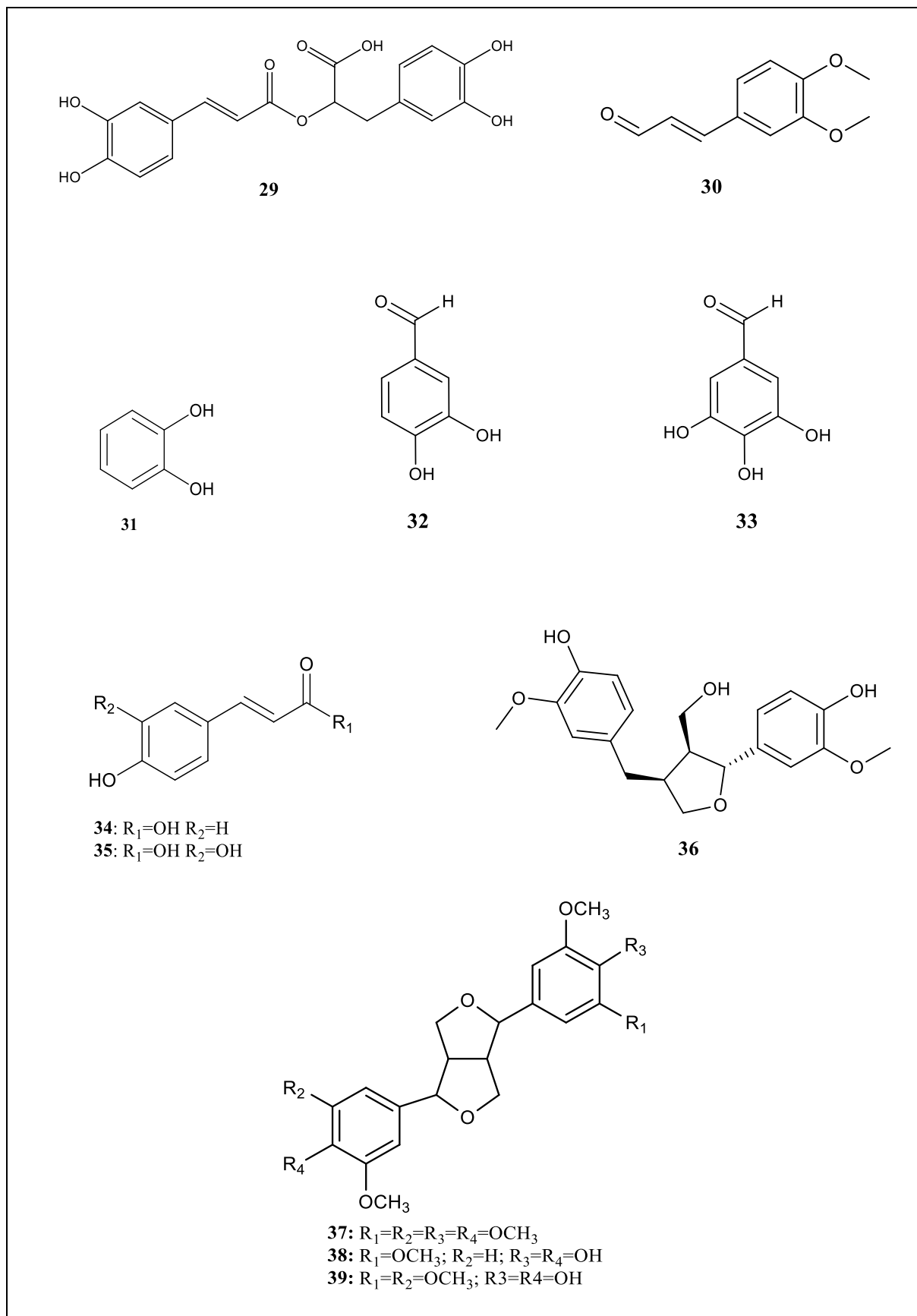
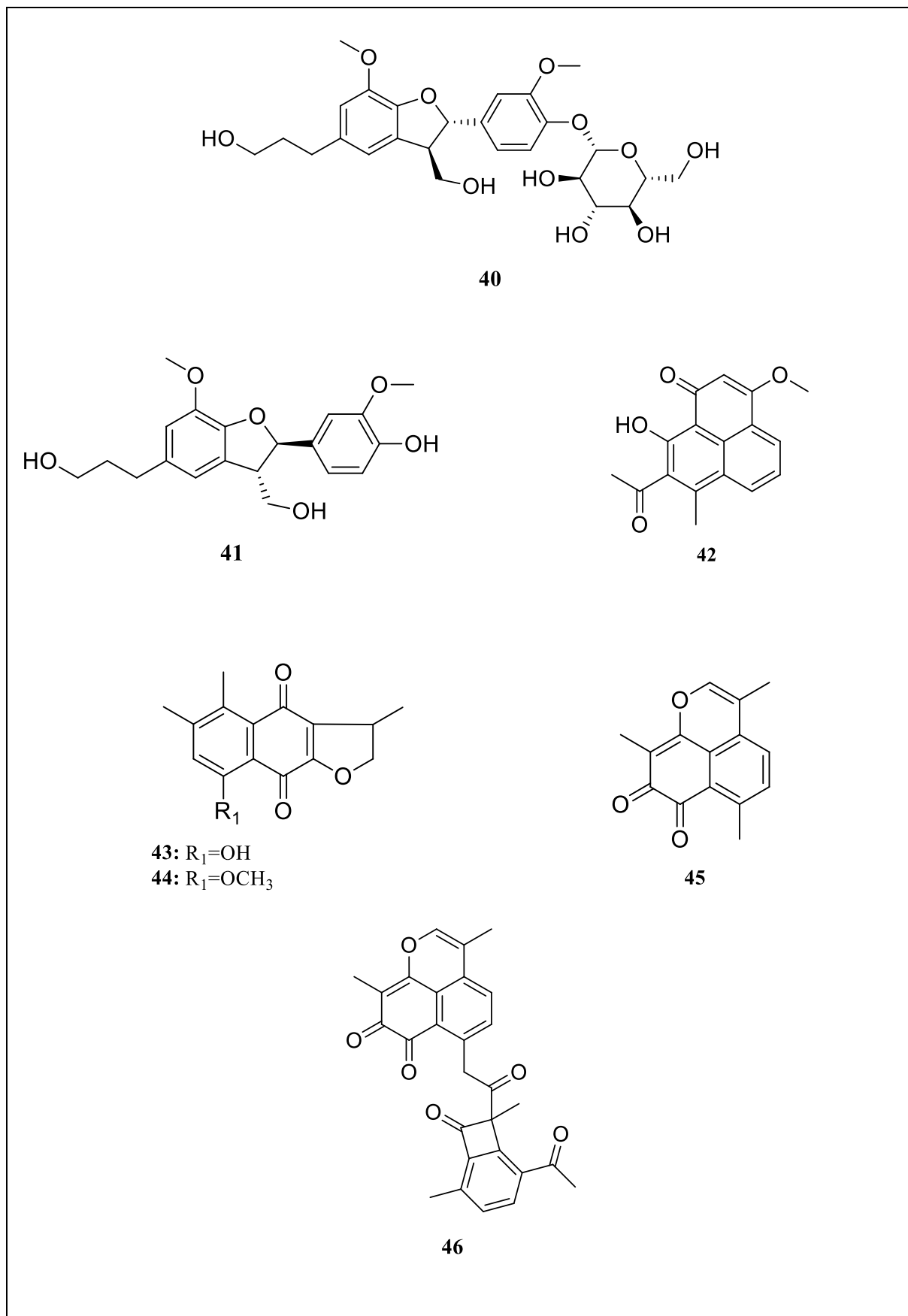


Figura 4 (continuação). Alguns constituintes químicos isolados de espécies do gênero *Helicteres*, citados no Quadro 1.



3.5 Aspectos gerais sobre a espécie *Helicteres eichleri* K. Schum

A espécie *Helicteres eichleri* conhecida popularmente como fumo-de-macaco é encontrada nos estados de Alagoas, Bahia, Maranhão, Paraíba, Pernambuco e Sergipe, apresentando-se como espécie nativa do Brasil (Figura 5). Presente nos domínios fitogeográficos como Caatinga e Mata atlântica (RAMALHO et al., 2009; ESTEVES, 2015).

Figura 5. Distribuição geográfica da espécie *Helicteres eichleri* representada pelas aéreas em amarelo.



Fonte: Adaptado de Tropicos, 2018.

No que diz respeito aos seus aspectos botânicos, trata-se de um arbusto com aproximadamente um metro e cinquenta centímetros de altura. Suas folhas são elípticas ou ovalada, às vezes assimétricas, um pouco espessas no final e possuem pelos espalhados por sua superfície; suas flores são retas, membranosas e fusiformes e as pétalas glabras. Os estames são castanhos, iguais entre si e lineares; ovário tomentoso, glabro, estigma truncado e papiloso (Figura 6, p. 36) (CRISTÓBAL, 2001).

Figura 6. *Helicteres eichleri* K. Schum



Fonte: CRISTÓBAL, 2001.

*A – ramo; B – flor; C - pétala completa, face interna; D - pétala do lado interno mais aberta; E - face externa; F - pétala aberta do lado de fora mostrando o interior do bolso; G - estaminódio visto pela frente; H - estaminódio visto por trás.

3.7 Aspectos gerais sobre *Aedes aegypti* L.

3.7.1. Ciclo de vida e arboviroses transmitidas pelo *Aedes aegypti* L.

O *Aedes aegypti* pertence à ordem Diptera e família Culicidae, se caracterizam como insetos que possuem metamorfose completa, holometábolos, com duas fases no seu ciclo de vida, aquática e terrestre, com duração de 15 a 30 dias, compreendendo as fases de ovo, quatro estágios larval (L1, L2, L3 e L4), pupa e mosquito adulto (Figura 7, p. 38) (SANTOS, 2008; OLIVEIRA, 2013).

Os ovos eclodem quando imersos em água, se transformando em larvas no intervalo de uma a duas semanas (NUNES, 2013). As larvas apresentam um aspecto alongado e vermiforme, corpo definido em cabeça, tórax e abdomen. De aspecto globoso e mais robusto, a cabeça e o torax tem uma maior quantidade de quitina, já o abdomen é fino, liso, flexível e dividido por segmentos. A maioria das larvas alimentam-se indistintamente do microplâncton presente em seus habitats, a ingestão não seletiva de partículas por parte das mesmas facilita a utilização de larvicidas por ação digestiva (GIALONARDO, HOLMES, 2015).

Após 7-10 dias as larvas passam por seus quatro estágios de desenvolvimento e transformam-se em pupas, permanecendo assim por aproximadamente 7 dias, delimitando a última fase aquática (FERNANDES, 2017). Por conseguinte, as pupas transformam-se em mosquitos adultos que emergem para sua fase aérea. Estes apresentam como características fenotípicas corpo escuro, com faixas brancas nas bases dos segmentos e desenho semelhante a uma lira no dorso. O tempo de vida do mosquito adulto é de poucas semanas, podendo chegar a 45 dias (GIALONARDO, HOLMES, 2015).

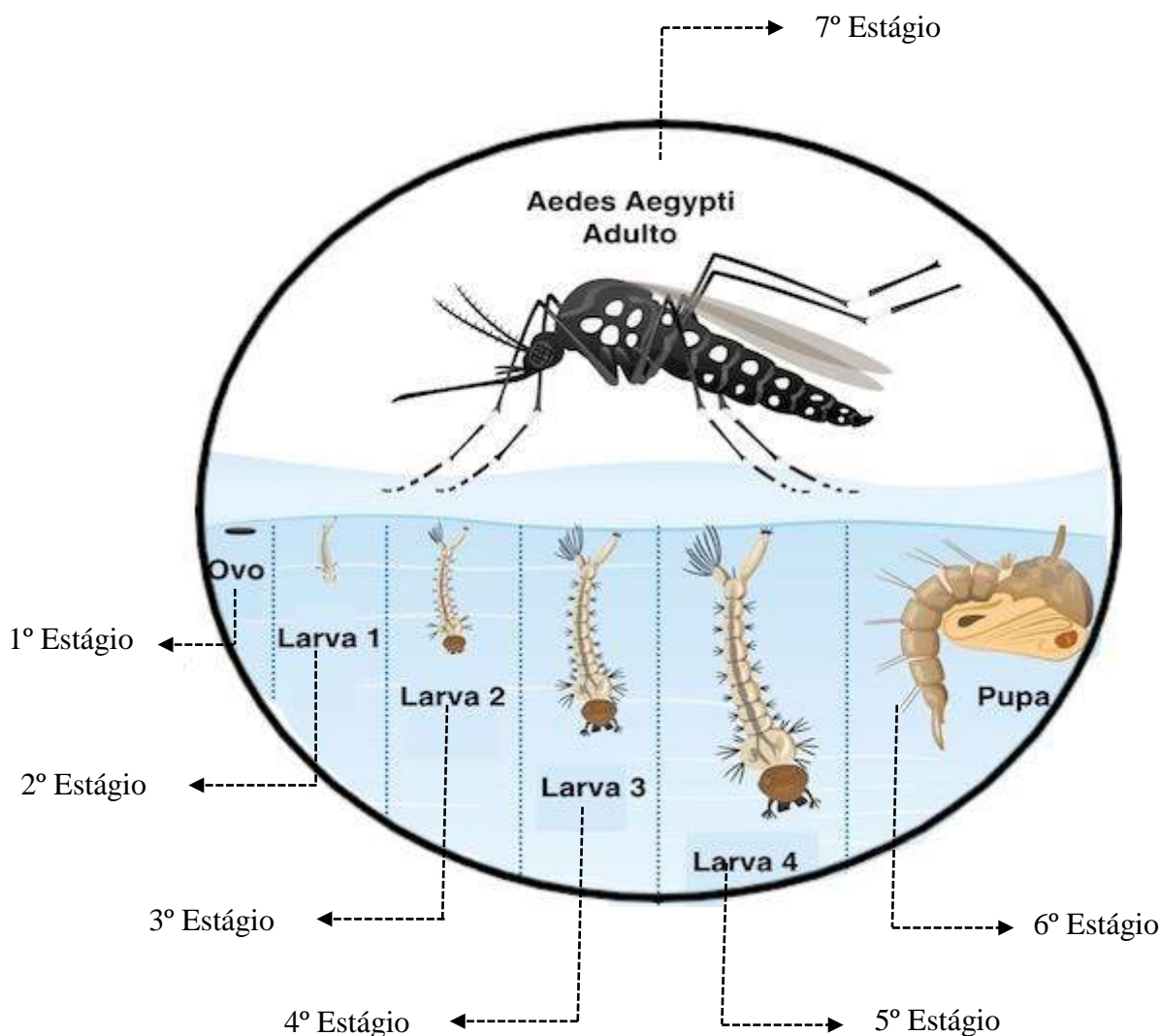
Somente as fêmeas se alimentam de sangue para que ocorra a maturação dos seus ovos, apresentando alto grau de antropofilia pelos humanos. Os picos de atividade hematofágica ocorrem durante o período matutino e vespertino (SANTOS, 2008).

Segundo Viana (2015), o *Ae. aegypti* é hoje considerado a principal vetor dentre os culicídeos de área urbana, responsável pela transmissão do vírus da dengue, Chikungunya e Zika, sendo ainda potencial vetor do vírus da febre amarela, o que demanda a necessidade de uma constante vigilância e controle dessa espécie em todo território nacional.

Até setembro de 2018, foram confirmados 218 casos de dengue grave e 2.341 casos de dengue com sinais de alarme. As maiores proporções dos sorotipos virais identificados no Brasil correspondem ao DENV-2 (52,4%), seguido do DENV-1 (23,9%). Em menores proporções foram identificados os sorotipos DENV-4 (0,4%) e DENV-3 (0,1%), ainda segundo

o boletim epidemiológico divulgado pelo Ministério da Saúde, foi possível registrar 50.356 casos de Chikungunia, 2.931 casos do vírus Zika no mesmo período (BRASIL, 2018).

Figura 7. Ciclo de vida do *Aedes aegypti*.



Fonte: <https://www.tuasaude.com/ciclo-de-vida-do-aedes-aegypti>

Condições socioambientais, como o processo de urbanização, a deficiência da infraestrutura social e os hábitos da população contribuíram para a dispersão do vetor, e, conseqüentemente, o avanço das doenças (SANTOS, 2008).

3.7.2 Principais formas de combate do vetor

A principal forma de combater as doenças ocasionadas pelo *Aedes aegypti*, é erradicando o artrópode causador, principalmente durante o seu estágio larval e adulto (OLIVEIRA, 2013). Apesar de já existirem algumas alternativas naturais, o controle ainda depende basicamente da utilização de pesticidas sintéticos (organofosforados e piretróides), que desencadeiam a resistência de insetos, necessitando de uma maior dosagem a cada aplicação, sendo necessário buscar novos compostos de origem vegetal, que possam ser uma opção mais seletiva, segura, economicamente viável e biodegradável (FERNANDES, 2017).

O preparo de extratos ou o isolamento de determinadas classes de substâncias a partir de plantas, como *Rhinacanthus nasutus*, *Calophyllum inophyllum* e *Azadirachta indica*, tem aplicação importante no combate a vetores, uma vez que podem possuir inibidores de crescimento, que atuam sobre o período de desenvolvimento, crescimento, emergência de adultos, fecundidade, fertilidade e eclosão de ovos dos insetos, como a Alguns extratos podem ocasionar distúrbio aos mecanismos sensoriais do inseto, impedindo ou diminuindo sua alimentação, o que pode ocasionar a morte (SINNIAH et al., 1994; MUTHUKRISHMAN & PUSHPALATHA, 2001; MACIEL et al., 2010; CABRAL, 2015; GOMES et al., 2015).

Nesse contexto, diversas espécies vegetais de diferentes famílias botânicas como Fabaceae, Euphorbiaceae, Meliaceae e Piperaceae são estudadas, e seus extratos e substâncias isoladas testados para comprovar suas atividades ovicidas, larvicidas, pupicidas, adulticidas e repelentes (FERNÁNDEZ, PINEDA, FRANCOIS 2011).

Assim, os terpenos são uma classe de compostos com grande abundância no reino vegetal e sua importância ecológica como defensivos de plantas já se encontra bem estabelecida (GOMES et al., 2015). Algumas características referentes a atividades como inibição ou retardo de crescimento, danos na maturação, redução da capacidade reprodutiva, supressão de apetite, que podem levar os insetos predadores à morte por inanição ou toxicidade direta já foram observadas através de estudos desses compostos (VIANA, 2015).

4 METODOLOGIA

4.1 Levantamento bibliográfico

O desenvolvimento do projeto foi realizado de forma contínua e a bibliografia foi atualizada em bases de dados, como o *Chemical Abstract*, *Biological Abstracts*, *SciFinder*[®] e *Web of Science*, buscando informações que viessem a contribuir com o sucesso da pesquisa.

4.2 Coleta e Identificação do Material Vegetal

As partes aéreas de *Helicteres eichleri* K. Schum foram coletadas e identificadas pelo Prof. Dr. Leonardo Pessoa Felix do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Paraíba, Campus Areia (CCA/UFPB). A coleta foi realizada em maio de 2017 no município de Sertãozinho-PB, situado na área de transição entre Caatinga e Mata Atlântica, conhecida como Caatinga Sublitorânea e uma exsicata encontra-se depositada no Herbário Jaime Coelho de Moraes (CCA/UFPB) sob o código JMPCordeiro 1147 e número de entrada 23402.

4.3 Estudo fitoquímico

Os experimentos relativos ao isolamento e identificação estrutural dos constituintes químicos de *Helicteres eichleri* foram realizados nas dependências do Laboratório de Fitoquímica Prof. Dr. Raimundo Braz Filho, pertencente ao Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos/CCS/UFPB.

4.3.1 Isolamento e purificação dos constituintes químicos de *Helicteres eichleri*

O isolamento dos constituintes químicos foi realizado através de métodos cromatográficos, como: Cromatografia em Coluna com sílica gel (partículas com 0,063-0,2 mm), sílica *flash* (70-230 mesh) e/ou Sephadex LH-20 (Merck), tendo como suportes colunas de vidro cilíndricas com dimensões variando de acordo com a quantidade de amostra a ser cromatografada. Solventes comerciais P.A., hexano, diclorometano, clorofórmio, acetato de etila, metanol e *n*-butanol, foram utilizados como fase móvel. Cromatografia em Camada Delgada Analítica (CCDA) foi empregada para a análise que possibilitou a reunião das frações obtidas por cromatografia em coluna.

As substâncias em análise foram evidenciadas pelo uso de radiação ultravioleta nos comprimentos de onda de 254 e 366 nm e reveladores químicos como, impregnação das placas em cubas de vidro saturadas por vapores de iodo, e anisaldeído para terpenos e esteroides.

Após análise por CCDA, as frações foram reunidas de acordo com a semelhança do seu perfil cromatográfico.

4.3.2 Caracterização estrutural das substâncias isoladas

A identificação ou elucidação estrutural das substâncias isoladas de *Helicteres eichleri* foi realizada por análise dos espectros de Ressonância Magnética Nuclear de ^1H e ^{13}C , utilizando técnicas uni (APT) e bidimensionais (HSQC e HMBC), e comparações com modelos da literatura.

O ponto de fusão foi determinado em um aparelho da FISATOM (Modelo 431D), monitorado por termômetro de mercúrio com capacidade de aferição entre a faixa 50 a 300 ° C.

▪ Ressonância Magnética Nuclear

Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear das substâncias isoladas foram obtidos utilizando o espectrômetro VARIAN-SYSTEM a 400 MHz (^1H) e 100 MHz (^{13}C) do LMCA-UFPA e o espectrômetro Bruker operando a 500 MHz (^1H) e 125 MHz (^{13}C), do Instituto de Farmácia e Ciências Biomédicas da Faculdade de Ciências da Universidade de Strathclyde. Os solventes deuterados utilizados na dissolução das amostras foram clorofórmio (CDCl_3), dimetilsulfóxido ($\text{DMSO}-d_6$) e piridina ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$). Os deslocamentos químicos (δ) foram expressos em partes por milhão (ppm) e as constantes de acoplamento (J) em Hz.

4.3.3 Processamento do material vegetal

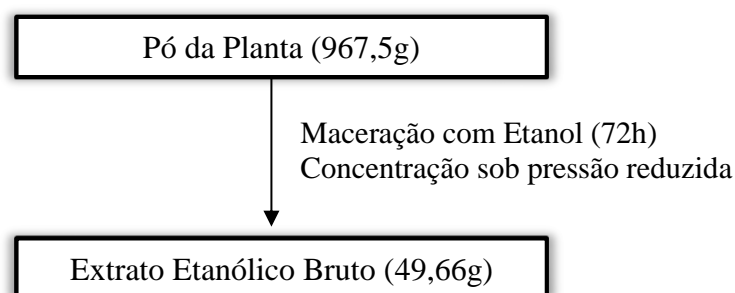
O material botânico coletado foi desidratado em estufa com ar circulante à 40°C durante 72 horas, e posteriormente triturado em moinho mecânico fornecendo 967,5g do pó.

4.3.4 Obtenção do Extrato Etanólico Bruto das partes aéreas de *Helicteres eichleri*

O pó do material botânico em questão foi submetido à maceração em etanol (EtOH) a 96% durante 72 horas, tal processo repetido para garantir uma melhor extração dos constituintes

químicos. A solução extrativa resultante foi filtrada e concentrada em evaporador rotativo a 40 °C, obtendo-se 49,66g do extrato etanólico bruto (EEB) (Esquema 2).

Esquema 2. Obtenção do EEB de *Helicteres eichleri*.



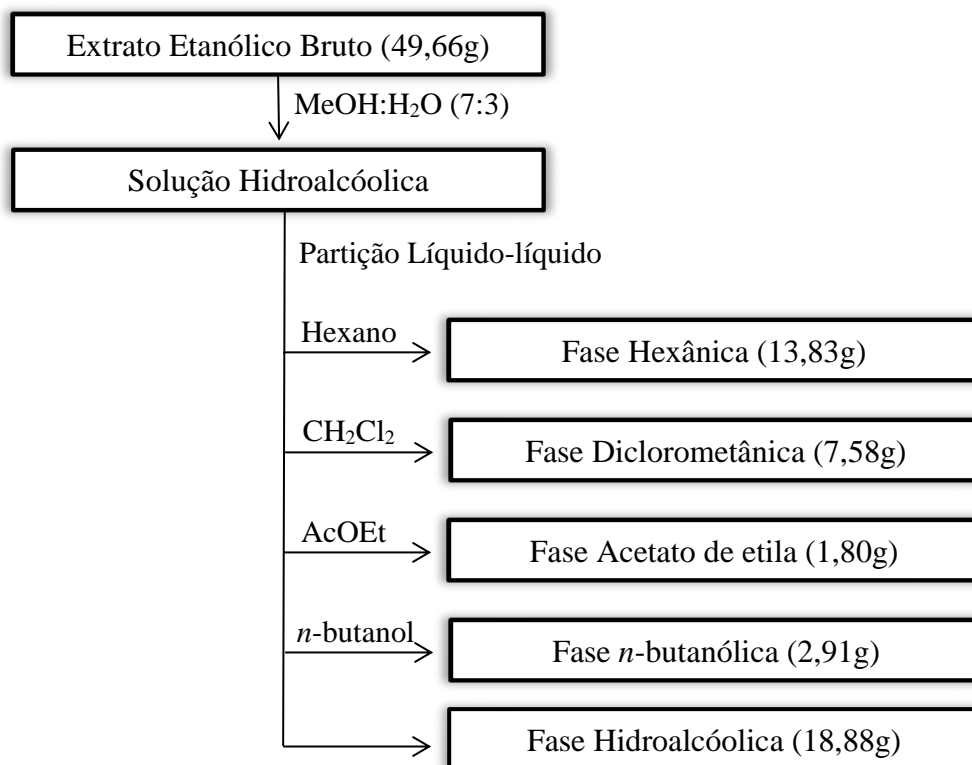
4.3.5 Fracionamento cromatográfico do Extrato Etanólico Bruto das partes aéreas de *Helicteres eichleri*

O EEB (45,0g) foi dissolvido em etanol:água (7:3) obtendo-se a solução hidroalcóolica, que por cromatografia líquido-líquido utilizando solventes de gradiente crescente de polaridade como, hexano, diclorometano, acetato de etila e *n*-butanol, forneceu suas soluções extrativas que foram concentrados em evaporador rotativo à 45°C sob pressão reduzida, resultaram nas respectivas fases: hexânica (13,83g), diclorometânica (7,58g), acetato de etila (1,80g), *n*-butanólica (2,91g), além da fase hidroalcoólica (18,88g) (Esquema 3, p. 44).

4.3.6 Processamento cromatográfico da fase hexânica do EEB das partes aéreas de *Helicteres eichleri*

A fase hexânica (13,83g) (Esquema 4, p.45) oriunda da cromatografia líquido-líquido do EEB foi submetida à cromatografia por filtração rápida utilizando sílica *flash* disposta em funil com sistema a vácuo. Como fases móveis foram utilizadas hexano, diclorometano e metanol, puros ou em misturas binárias seguindo gradiente crescente de polaridade, onde foram coletadas 9 frações. Em seguida, as frações resultantes foram concentradas em evaporador rotativo e analisadas por Cromatografia em Camada Delgada Analítica (CCDA) em vários sistemas de solventes. Estas foram reunidas de acordo com a semelhança do perfil cromatográfico e resultou em 5 frações, codificadas como A, B, C, D e E.

Esquema 3. Cromatografia líquido-líquido do EEB das partes aéreas de *Helicteres eichleri*.



4.3.6.1 Fracionamento cromatográfico da fração C obtida da fase hexânica do EEB das partes aéreas de *Helicteres eichleri*

A fração C, pesando 0,74g foi aplicada em uma coluna empregando Sílica gel como fase estacionária e como fase móvel hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol, sozinhos ou em misturas binárias, obtendo-se 56 frações que foram concentradas em rotaevaporador, analisadas por CCDA e reunidas em 11 sub-frações. A sub-fração 10 (15,3mg) foi obtida na forma de um pó branco amorfo, enquanto que a sub-fração 18 (10,3mg) apresentou-se na forma de cristais incolores no formato de agulha e foram codificadas como *He-1* e *He-3*, respectivamente (Esquema 4, p. 46).

4.3.6.2 Fracionamento cromatográfico da fração B obtida da fase hexânica do EEB das partes aéreas de *Helicteres eichleri*

A fração B (2,38g) mostrou perfil cromatográfico interessante e promissor quando analisada por CCDA, sendo submetida a cromatografia em coluna, adotando-se as mesmas condições cromatográficas apresentadas anteriormente (Esquema 5, p. 47). Este fracionamento

resultou em 142 frações, as quais foram concentradas em rotaevaporador e analisadas por CCDA em vários sistemas de solventes e posteriormente reunidas em 11 sub-frações. A sub-fração 112 foi obtida como um pó branco amorfo, recebendo a codificação de *He-5*.

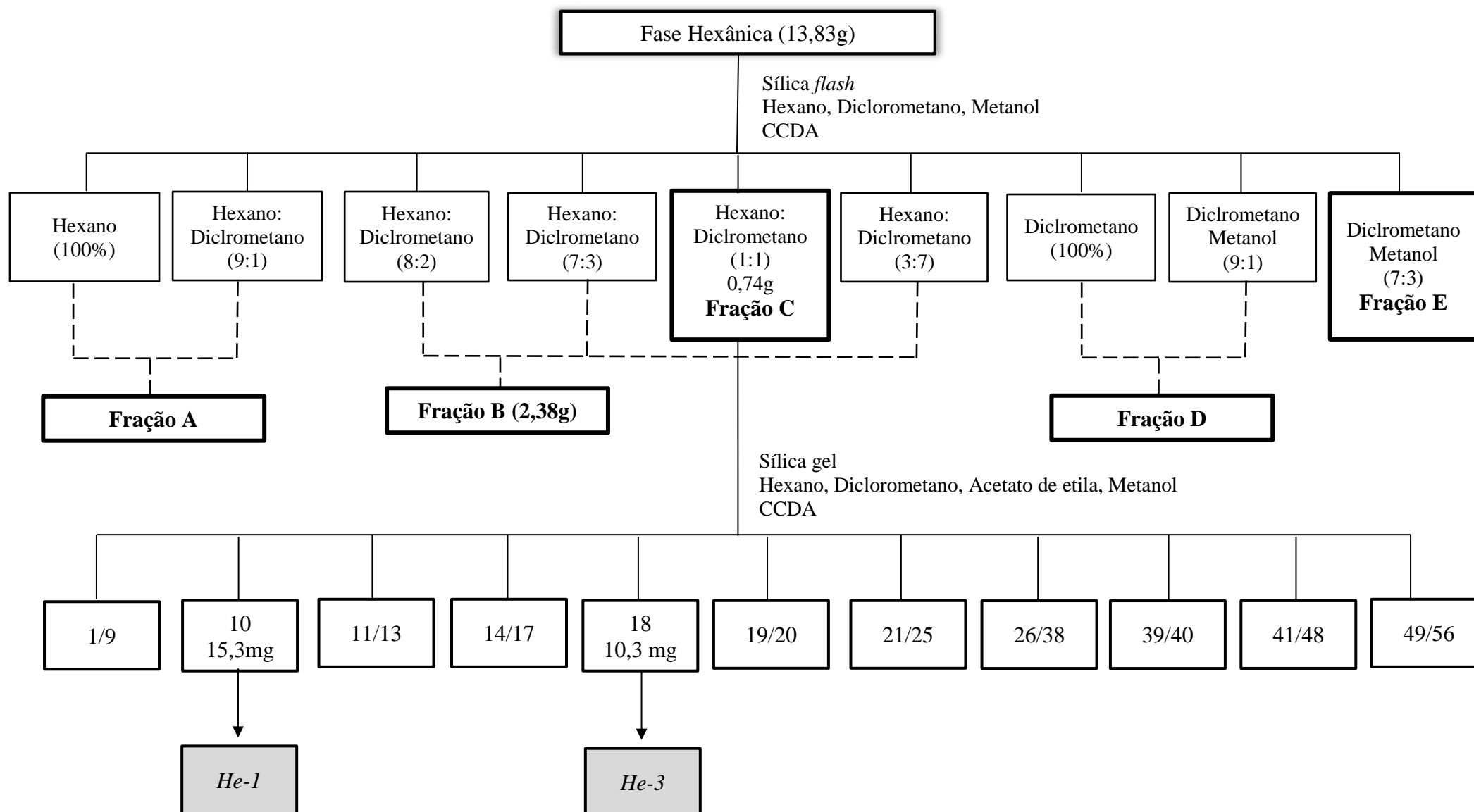
A sub-fração 63/84 foi submetida à cromatografia em coluna utilizando como fase estacionária sílica gel e fase móvel hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol, sozinhos ou em misturas binárias, em ordem crescente de polaridade. Esse processo cromatográfico resultou na obtenção de 25 frações, que foram concentradas em rotaevaporador, analisadas por CCDA e reunidas em 6 sub-frações. A sub-fração 16/20, apresentou aspecto oleoso, sendo codificada como *He-6* (Esquema 5, p. 47).

As sub-frações 85/102, 103/104, 105/111, e 113/142 foram reunidas devido a grande similaridade cromatográfica observada em CCDA e resultou na sub-fração 85/142. Assim, após a reunião foi obtido cerca de 0,79g e recodificada como 85/142 (0,79g) que foi submetido a outro processamento cromatográfico seguindo a metodologia adotada para obtê-la. Este procedimento forneceu 18 sub-frações. Destas, a sub-fração 5 foi obtida na forma de um pó e codificada como *He-4* (Esquema 5, p. 47).

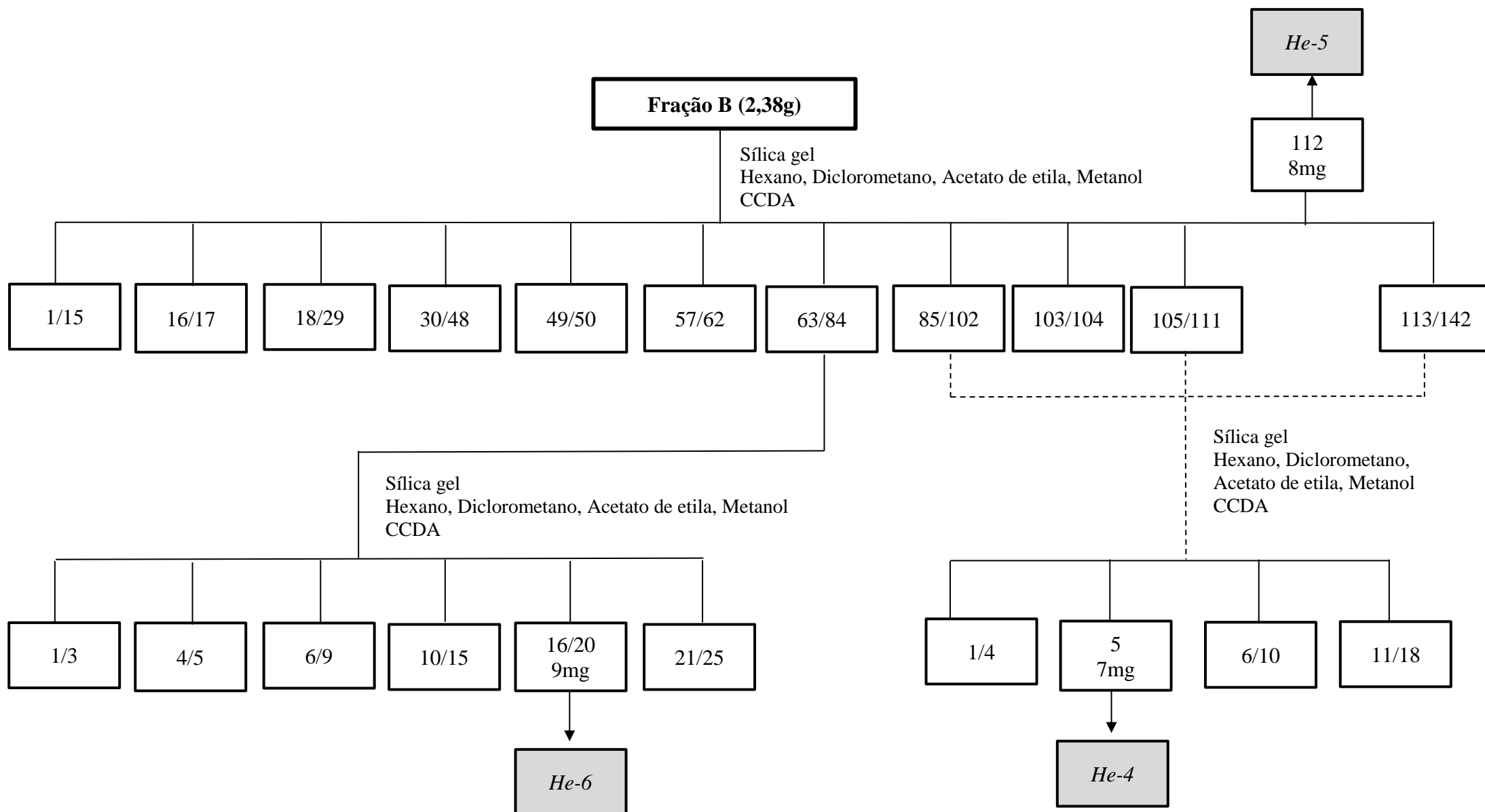
4.3.7 Processamento cromatográfico da fase *n*-butanólica do EEB das partes aéreas de *Helicteres eichleri*

Parte da fase *n*-butanólica (2g) foi submetida a cromatografia em coluna utilizando sephadex-LH20 como fase estacionária, como fase móvel foram utilizados metanol e clorofórmio. As 10 frações resultantes foram analisadas em CCDA, dentre elas a fração 9 mostrou-se pura em vários sistemas de solventes, sendo codificada como *He-2* (Esquema 6, p. 48).

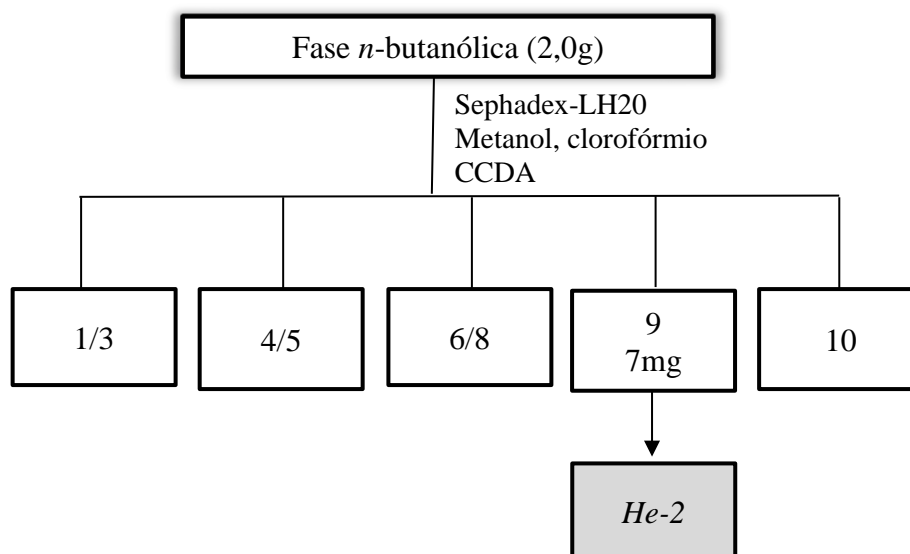
Esquema 4. Fracionamento cromatográfico da fase hexânica do EEB das partes aéreas de *Helicteres eichleri*.



Esquema 5. Fracionamento cromatográfico da fração B da fase hexânica do EEB das partes aéreas de *Helicteres eichleri*



Esquema 6. Fracionamento cromatográfico da fase *n*-butanólica do EEB das partes aéreas de *Helicteres eichleri*



4.6 Bioensaios

A abordagem exploratória do extrato etanólico bruto das partes aéreas de *H. eichleri* sobre seu potencial larvicida frente a larvas no quarto estágio de *Aedes aegypti*, foi realizada em parceria e coordenação da Prof^a Dr^a Fabíola da Cruz Nunes, nas dependências do Laboratório de Biotecnologia Aplicada a Parasitas e Vetores (LAPAVET), no Centro de Biotecnologia da Universidade Federal da Paraíba.

4.6.1. Obtenção das larvas de *Aedes aegypti*

As larvas de *Aedes aegypti* da linhagem Rockefeller João Pessoa, utilizadas como cepa padrão de susceptibilidade a inseticidas, foram obtidas de uma colônia cíclica mantida no LAPAVET.

Para realização dos bioensaios, discos de papel filtro contendo ovos provenientes da ovoposição dos mosquitos fêmeas do insetário pertencente ao LAPAVET, foram colocados para eclosão em recipientes de plástico contendo água da rede pública de abastecimento. Após a eclosão, para auxiliar no crescimento das larvas, foi adicionado ração para gatos triturada. As larvas foram mantidas e monitoradas até que atingissem o quarto estágio de desenvolvimento (L4). Optou-se por utilizar larvas L4 pela maior facilidade de percepção de ausência ou

presença de vida e por serem mais resistentes em relação aos estágios mais imaturos de vida do mosquito (NUNES et al., 2015).

O ciclo de vida das larvas foi mantido dentro de uma câmara climatizada do tipo Biological Oxygen Demand (BOD), sob condições controladas de temperatura 27 ± 2 °C, umidade relativa do ar $75 \pm 5\%$ e fotoperíodo de 12 horas claro e escuro (NUNES et al., 2015).

4.6.2 Ensaio da atividade larvicida do extrato etanólico bruto de *H. eichleri*

O EEB de *H. eichleri* foi testado em larvas do mosquito *Ae. aegypti*, realizados segundo metodologia preconizada pela *World Health Organization* (WHO, 1970).

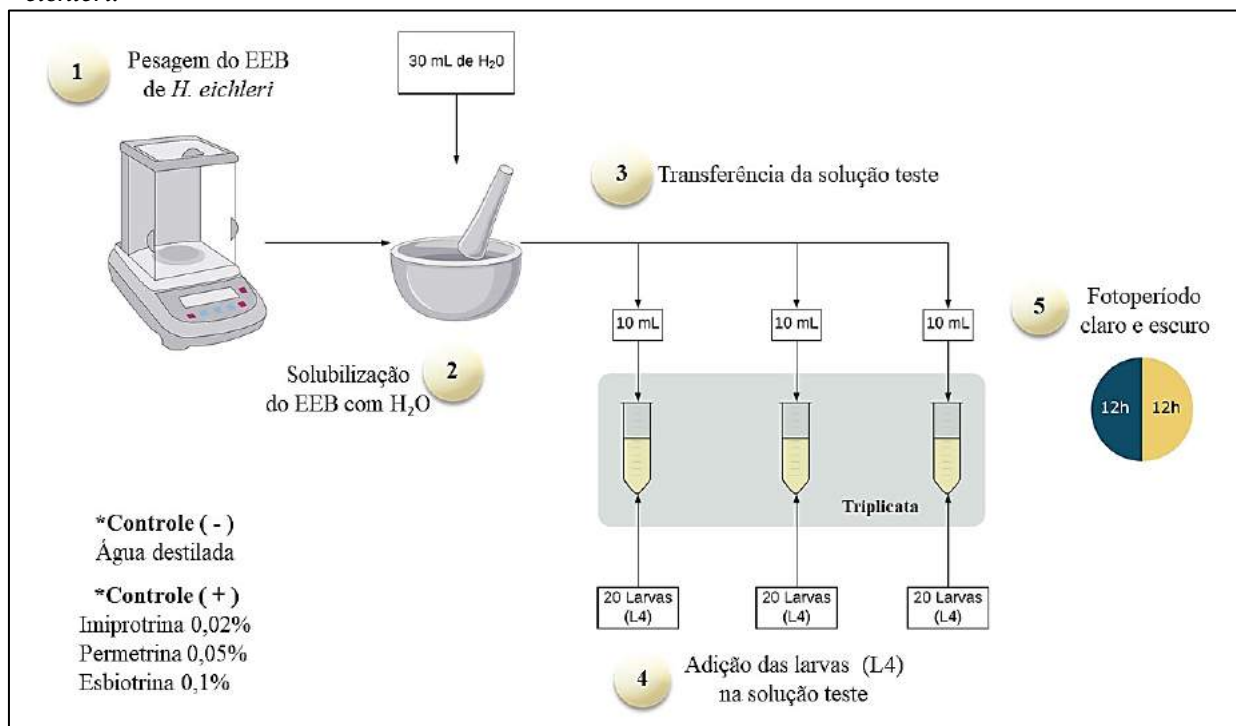
Foram testadas as concentrações 1,25 mg/mL, 2,5 mg/mL, 5,0 mg/mL, 10,0 mg/mL e 20 mg/mL nesse estudo. Para cada concentração, o EEB foi pesado em balança analítica e diluído em 30 mL de água destilada com auxílio de grau e pistilo, para total solubilização. Posteriormente foi transferido 10 mL de cada solução teste para tubos Falcon com capacidade para 50 mL. Por conseguinte, vinte larvas saudáveis (L4) de *Ae. aegypti*, foram contadas e transferidas com auxílio pipeta Pasteur para os tubos Falcon contendo as soluções testes nas diferentes concentrações. Os experimentos foram realizados em triplicata. As larvas foram mantidas a temperatura de 28 °C, com um fotoperíodo de 12 horas de claro e escuro (Figura 8, p. 50). A mortalidade das larvas foi verificada 24 e 48 horas após o início de cada teste.

O grupo controle negativo foi composto por 20 larvas L4 expostas apenas a água destilada. Se houvesse pupação de mais de 10% no controle ou mortalidade acima de 20% no período de 24 horas, o experimento seria descartado e deveria ser repetido (TRINDADE, 2012). O grupo controle positivo foi composto por 20 larvas L4 expostas a 1 mL de um inseticida comercial, possuindo a seguinte composição: Imiprotrina 0,02%, Permetrina 0,05% e Esbio-trina 0,1%.

Para leituras das larvas sobreviventes, todas foram transferidas para placas Petri, sendo consideradas sem vida quando observada ausência total de movimentos e por meio da estimulação mecânica através de pipetas Pasteur. Ao fim dos experimentos as larvas vivas foram mortas com solução detergente e descartadas.

A atividade do extrato testado foi estabelecida com base na percentagem média de mortalidade das larvas após 24 e 48 horas ($> 75\%$ [resultado promissor], $50-75\%$ [parcialmente promissor], $25-50\%$ [fracamente promissor], e $<25\%$ [inativo]) (SANTOS et al., 2012).

Figura 8. Modelo experimental de suscetibilidade das larvas de *Aedes aegypti* ao EEB de *Helicoverpa eichleri*.



Fonte: própria do autor.

4.6.3 Análise estatística

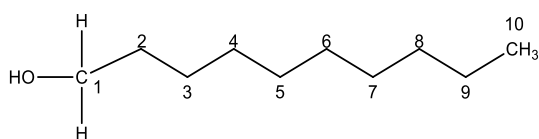
A análise estatística e o cálculo da CL₅₀ para 24 e 48 horas de exposição foram realizados usando o programa GraphPad Prism versão 5.0 para Windows (GraphPad Software, San Diego, CA). Diferenças significativas entre os grupos foram analisadas por ANOVA e pós-teste de Tukey ($p < 0.05$).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

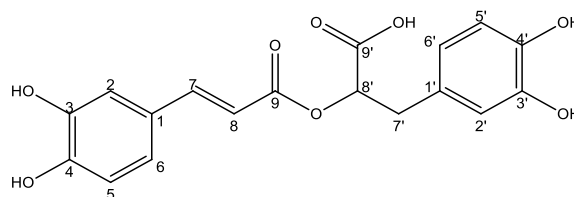
5.1 Substâncias isoladas das partes aéreas de *Helicteres eichleri* K. Schum

O estudo fitoquímico das partes aéreas de *Helicteres eichleri* conduziu ao isolamento dos constituintes químicos apresentados no quadro a seguir:

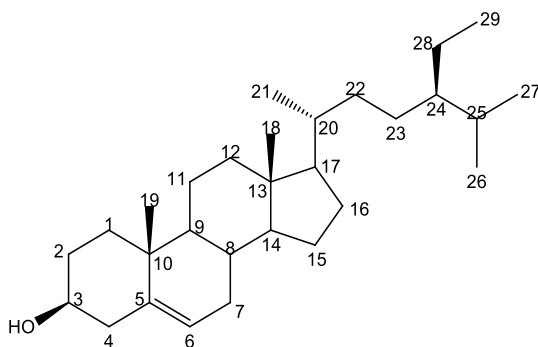
Quadro 2. Substâncias isoladas e identificadas das partes aéreas de *Helicteres eichleri* K. Schum



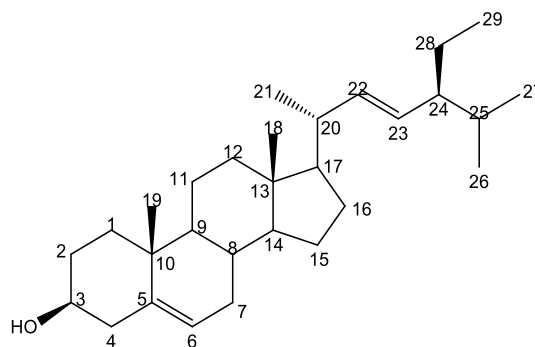
He-1: decanol



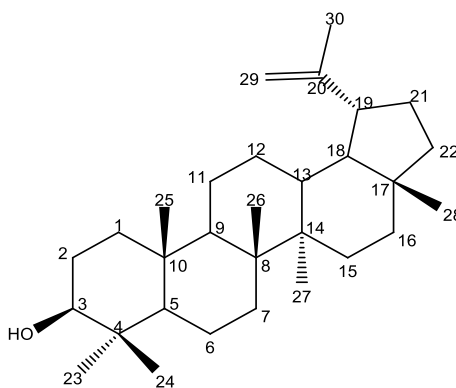
He-2: ácido rosmarínico



He-3a: β -Sitosterol

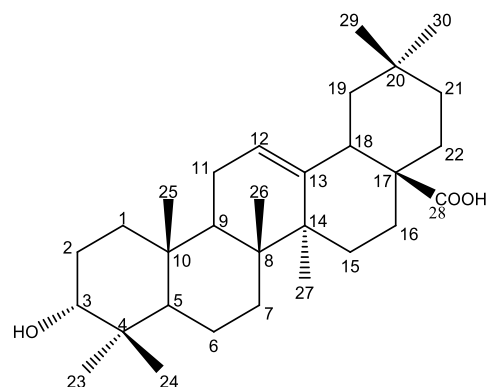
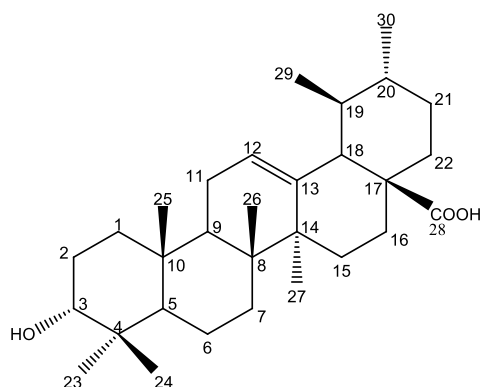


He-3b: estigmasterol

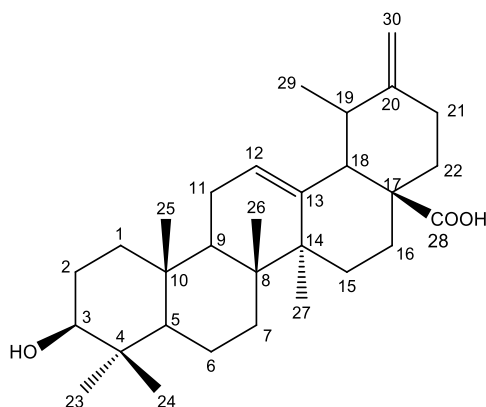


He-4: lupeol

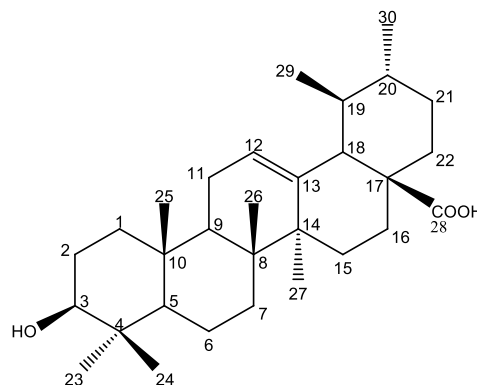
Quadro 2 (continuação). Substâncias isoladas e identificadas das partes aéreas de *Helicteres eichleri* K. Schum.



He-5a: ácido 3- α -hidróxi-urs-12-en-28-óico **He-5b:** ácido 3- α -hidroxi-olean-12-en-28-óico



He-6a: ácido micromérico



He-6b: ácido ursólico

5.2.1 Caracterização estrutural de *He-1*

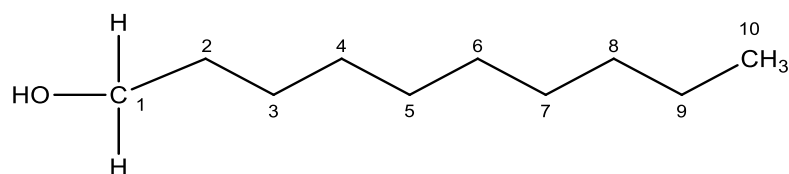
A substância codificada como *He-1*, apresentou-se na forma de um pó branco amorfo. A análise do seu espectro de RMN ^1H (Figura 9, p. 55) revelou a existência de hidrogênios ligados a carbonos com hibridização sp^3 e sinais indicativos de hidrogênio oximetilênico ao exibir um triplete em δ_{H} 3,63 (t, $J = 6.6$ Hz) (PAVIA et al., 2015).

Na expansão do seu espectro de ^1H (Figura 10, p. 56) foi possível visualizar outro triplete com integração para três hidrogênios em δ_{H} 0,87 (t, $J = 6.8$ Hz, 3H), permitindo inferir para *He-1* a presença de um grupo metila. Outra informação fornecida por este espectro foi um

conjunto de absorções com considerável multiplicidade na região entre δ_H 1,25 e 1,57 que permitiu sugerir a presença de grupos metilênicos na estrutura em questão (BRITO-FILHO et al., 2017).

O espectro de RMN ^{13}C - APT (Figura 11, p. 56) de *He-1*, apresentou absorções para dez átomos de carbono, sendo oito metilênicos entre δ_C 22,84-32,97, uma absorção em δ_C 63,27 típica de carbono oximetilênico e um carbono metílico em δ_C 14,2. Estas informações ratifica a proposta de que a molécula em análise possui estes grupos (FERNANDES et al., 2018).

Desta forma, os dados de RMN 1H e ^{13}C em compilação com os valores obtidos na literatura (Tabela 1, p. 55) permitiram atribuir a estrutura do álcool alifático decanol para *He-1*. Essa substância foi substância isolada anteriormente de *Helicteres velutina* (FERNANDES et al., 2018) e relatada pela primeira vez na espécie *Helicteres eichleri*. Pesquisas anteriores comprovaram sua ação contra ovos, larvas e pupas do mosquito *Aedes aegypti* (SINNIAH, 1983).



He-1
(Decanol)

Tabela 1. Dados comparativos de RMN ^1H e ^{13}C da substância *He-1* (δ , CDCl_3 , 400 e 100 MHz) com o modelo da literatura Mo-1 (δ , CDCl_3 , 400 e 100 MHz) (FERNANDES et al., 2018).

Mo-1 (Decanol)			<i>He-1</i>	
C	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
1	3,63 (t, $J = 6.5$ Hz, 2H)	63,0	3,63 (t, $J = 6.6$ Hz)	63,2
2		32,7		32,9
3		25,7		25,8
4		29,3		29,5
5		29,4		29,5
6	1,25-1,59 (m)	29,6	1,25-1,57 (m)	29,7
7		29,7		29,8
8		31,9		32,0
9		22,6		22,4
10	0,87 (t, $J = 6.7$ Hz, 3H)	14,1	0,87 (t, $J = 6.8$ Hz, 3H)	14,2

Figura 9. Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de *He-1*.

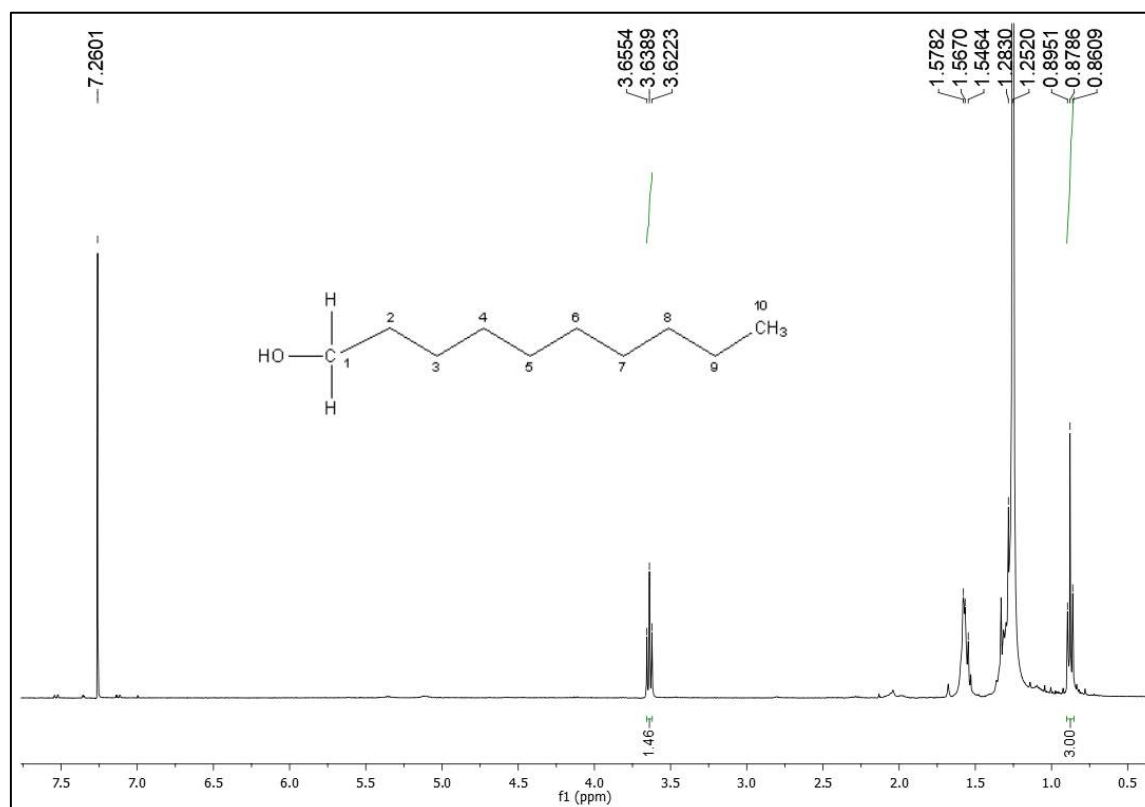


Figura 10. Expansão do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de *He-1* na região entre 1,90 e 0,75 ppm.

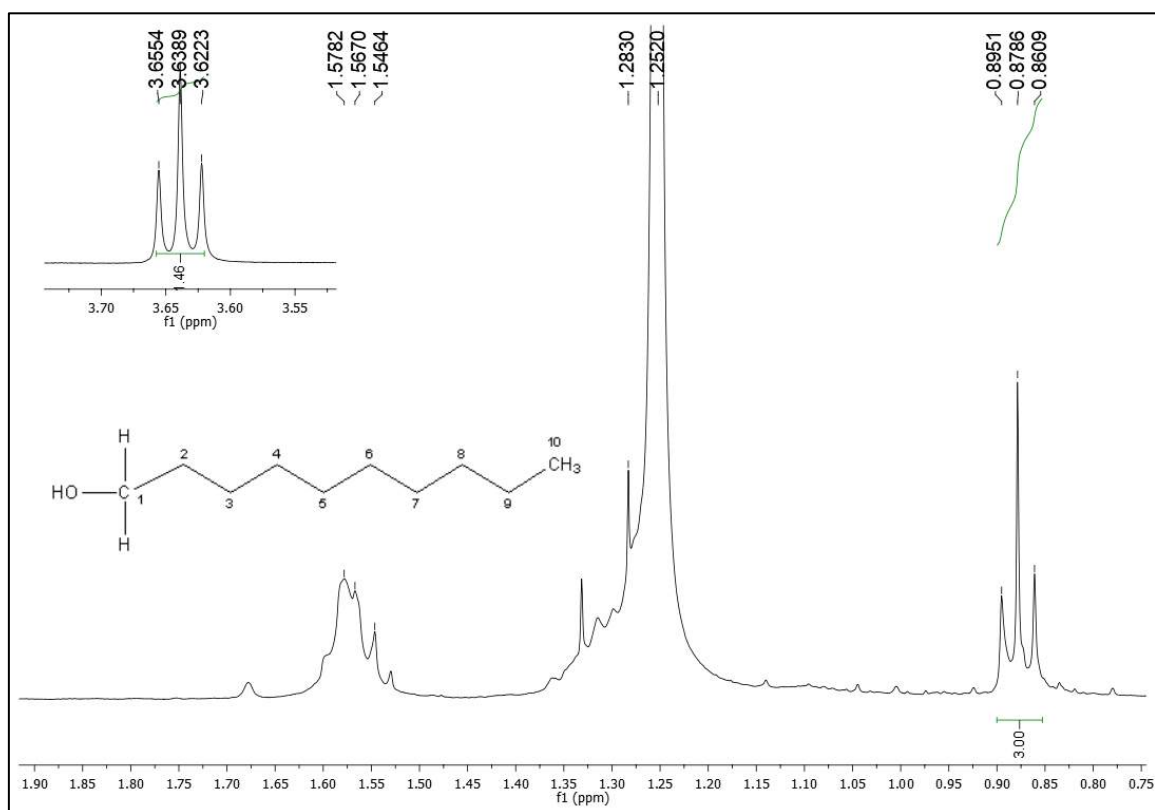
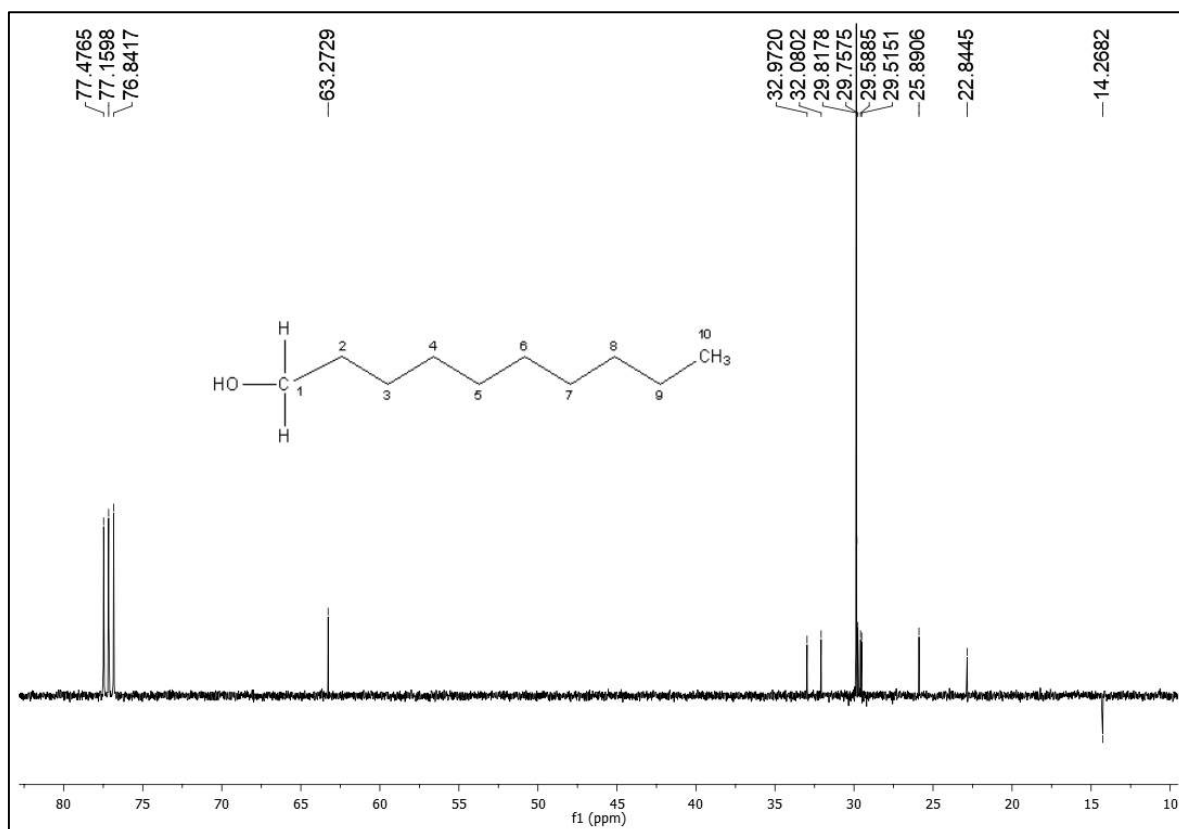


Figura 11. Espectro de RMN ^{13}C - APT (δ , CDCl_3 , 100 MHz) de *He-1*.



5.2.2 Caracterização estrutural de *He-2*

A substância *He-2* foi obtida na forma de pó incolor. A análise do espectro de RMN ^1H (Figura 12, p. 62), obtido a 500 MHz, mostrou um perfil de absorções correspondente a substância que apresenta mais de um anel aromático, com sinais intensos na região entre δ_{H} 6,21 e 7,45.

A existência de um anel aromático trissubstituído para *He-2* (Figura 13, p. 62) foi evidenciado pelo duplo duplete em δ_{H} 6,98 atribuído ao hidrogênio H-6 ($J=8,2$ Hz), que acopla *orto* com o pico em δ_{H} 6,77 referente ao H-5 e *meta* ($J=2,0$ Hz) com o duplete em δ_{H} 7,06 que foi definido com o hidrogênio da posição dois (LIU et al., 2014) (Tabela 3, p. 60).

Um outro sistema aromático também trissubstituído (Figura 14, p. 63) do tipo ABX para a molécula em análise foi sugerido pelos sinais em δ_{H} 6,68 (d, $J=1,9$ Hz) atribuído ao H-2', que se correlaciona *meta* ($J=1,9$ Hz) com o sinal em δ_{H} 6,51 que se apresenta na forma de um duplo duplete com J de 8,0 e 1,9 Hz, uma vez que acopla *orto* com H-5' presente em δ_{H} 6,63 (d, $J=8,0$ Hz) (YADIKAR et al., 2018). Estes dados permitiram propor que *He-2* possui dois sistemas do tipo ABX (Tabela 3, p. 59).

Os sinais em δ_{H} 2,99 (dd, $J = 14.2$ e 3.8 Hz) e 2,87 (dd, $J = 14.3$ e 8.8 Hz) (Figura 15, p. 63), bem como seus padrões de acoplamento geminal foram comparados com os dados da literatura atribuídos aos hidrogênios metilênicos H-7'a e H-7'b, ambos duplo duplete do ácido rosmarínico. Esta análise comparativa permitiu sugerir que *He-2* se tratava desta molécula (LIU et al., 2014; YADIKAR et al., 2018).

A existência de um duplo duplete em δ_{H} 5,00 ($J = 8.8$ e 3.8 Hz) foi aferido para um hidrogênio oximetínico em H-8' (Figura 16, p. 64) (LIU et al., 2014).

Ainda no espectro de RMN de ^1H , a presença dos dupletos em δ_{H} 6,22 e δ_{H} 7,43 (Figura 16, p. 64), ambos com $J = 15,9$ Hz e integral para 1H cada, caracterizando uma ligação *trans* entre hidrogênios olefínicos, devido a magnitude das suas constantes de acoplamento, corroboram com a proposta sugerida (YADIKAR et al., 2018).

O espectro de RMN ^{13}C utilizando a técnica APT e suas expansões (Figuras 17 a 19, p. 64 e 65) revelaram 18 sinais para carbonos, dos quais doze foram atribuídos a carbonos aromáticos, sendo quatro deles sugestivos de carbonos aromáticos ligados a hidroxilas fenólicas em δ_{C} 145,6 (C-3), 148,6 (C-4), 145,0 (C-3') e 143,9 (C-4') e sinais em δ_{C} 125,4 e 127,7 correspondentes aos dois carbonos aromáticos não hidrogenados da posição C-1 e C-1', respectivamente. Além disso, a presença de carbonos aromáticos mono-hidrogenados nas posições C-2, C-2', C-5, C-5', C-6 e C-6', foi sustentada pelos deslocamentos químicos em δ_{C}

114,9, 116,7, 115,8, 115,4, 121,5 e 120,0, respectivamente (Tabela 2, p. 60) (GOHARI et al., 2009).

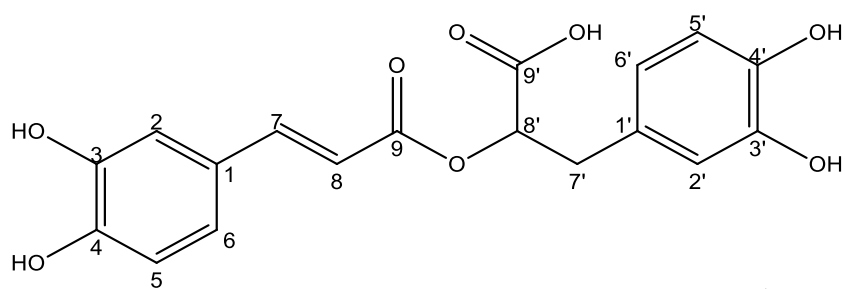
Adicionalmente, a existência de um carbono em δ_C 36,3, sendo o único carbono metilênico presente na estrutura, e um sinal indicativo de carbono metínico oxigenado em δ_C 73,4, fortalecem a presença do ácido fenólico indicado (FATIMA, SIDDIQUI, BEGUM, 2017).

Ainda nesse espectro, foi possível observar a presença dos sinais em δ_C 145,6 e 113,5, típicos de carbonos olefínicos, bem como, o deslocamento químico correspondente a carbonila de éster em δ_C 166,0, juntamente com o sinal em δ_C 171,1 para o carbono do grupo carboxila (OLENNIKOV, DAIRONAS, ZILFIKAROV, 2017).

No espectro de mapa de contorno bidimensional HMBC de *He-2* (Figuras 20 a 22, p. 66 e 67), observou-se a correlação a três ligações (3J) de H-8 (δ_H 6,22) com o carbono em δ_C 125,4 (C-1) e, diante desta informação, foi possível confirmar a ligação do sistema olefínico ao primeiro anel aromático. Observou-se que H-7'a (δ_H 2,87) apresentou correlação com os carbonos C-9', C-2' e C-6' (δ_C 171,1, 116,7 e 120,0) a três ligações (3J) e com C-1' (δ_C 127,7) a duas ligações (2J), enquanto que H-7'b (δ_H 2,99) apresentou correlações com os carbonos C-2' e C-6' (δ_C 116,7 e 120,0) a três ligações, confirmando a ligação deste sistema ao segundo anel aromático. As demais correlações observadas nos mapas de contornos HMBC e HSQC de *He-2* estão apresentadas na tabela 3 (GOHARI et al., 2009).

Após comparações dos dados obtidos por RMN 1H , ^{13}C -APT, HMBC e HSQC de *He-2* com informações encontradas na literatura (Tabelas 2 e 3, p. 60 e 61), concluiu-se que a substância é o ácido *O*-cafeoil-3,4-diidroxifenil láctico, conhecido como ácido rosmarínico, isolado anteriormente de *Helicteres angustifolia* (WANG et al., 2012) e *Helicteres vegae* (OLIVAS-QUINTERO et al., 2017), e relatada pela primeira vez na espécie *Helicteres eichleri*.

Este ácido fenólico apresenta uma série de atividades biológicas, como anticolinesterase, antidepressiva, antifibrótica, antigenotóxica e anti-inflamatória, antimicrobiana, entre outras já descritas por alguns autores (DASTMALCHI et al., 2009; LI et al., 2010; OLIVEIRA et al., 2012; ABEDINI et al. 2013; KONDO et al., 2015; ROCHA et al., 2015).



He-2

Ácido *O*-cafeoil-3,4-dihidroxifenil láctico
(Ácido rosmarínico)

Tabela 2. Dados comparativos de RMN ^1H e ^{13}C da substância *He-2* (δ , DMSO- d_6 , 500 e 125 MHz) com o modelo da literatura Mo-1 (δ , DMSO- d_6 , 500 e 125 MHz) (GOHARI et al., 2009).

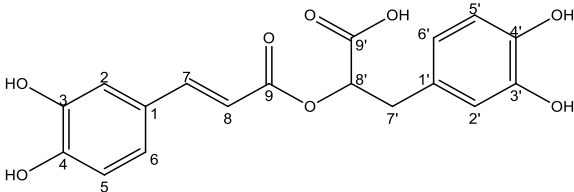
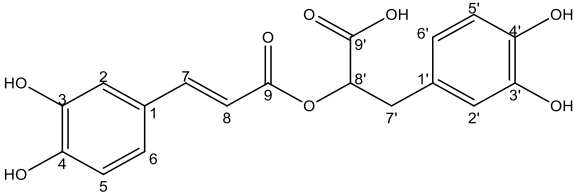
Mo-1 (Ácido rosmarínico)			<i>He-2</i>	
				
C	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
1	-	126,3	-	125,4
2	7,05 (d, $J = 1.4$ Hz, 1H)	115,8	7,06 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H)	114,9
3	-	146,7	-	145,6
4	-	149,4	-	148,6
5	6,77 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H)	116,8	6,77 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H)	115,8
6	6,94 (dd, $J = 8.2$ e 1.5 Hz, 1H)	121,8	6,98 (dd, $J = 8.2$ e 2.0 Hz, 1H)	121,5
7	7,40 (d, $J = 15.8$ Hz, 1H)	145,4	7,43 (d, $J = 15.9$ Hz, 1H)	145,6
8	6,20 (d, $J = 15.9$ Hz, 1H)	115,5	6,22 (d, $J = 15.9$ Hz, 1H)	113,5
9	-	167,1	-	166,0
1'	-	130,4	-	127,7
2'	6,69 (d, $J = 1.5$ Hz, 1H)	117,5	6,68 (d, $J = 1.9$ Hz)	116,7
3'	-	145,8	-	145,0
4'	-	144,5	-	143,9
5'	6,60 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H)	116,3	6,63 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H)	115,4
6'	6,50 (dd, $J = 8.0$ e 1.5 Hz, 1H)	120,5	6,51 (dd, $J = 8.0$ e 1.9 Hz)	120,0
7'a	2,81 (dd, $J = 10.1$ e 10 Hz, 1H)	37,9	2,87 (dd, $J = 14.3$ e 8.8 Hz, 1H)	36,3
7'b	3,05 (d, $J = 10.0$, 1H)		2,99 (dd, $J = 14.2$ e 3.8 Hz, 1H)	
8'	4,92 (dd, $J = 10.0$ e 2.8 Hz, 1H)	74,4	5,00 (dd, $J = 8.8$ e 3.8 Hz, 1H)	73,4
9'	-	174,	-	171,1

Tabela 3. Compilação dos dados de RMN ^1H e ^{13}C , HSQC e HMBC de *He-2* (δ , DMSO- d_6 , 500 e 125 MHz).

<i>He-2</i>				
HMQC			HMBC	
C	δ_{H}	δ_{C}	2J	3J
1	-	125,4	-	-
2	7,06 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H)	114,9	C-3	C-4, C-6, C-7
3	-	145,6	-	-
4	-	148,6	-	-
5	6,77 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H)	115,8	C-4	C-1, C-3
6	6,98 (dd, $J = 8.2$ e 2.0 Hz, 1H)	121,5	-	C-2, C-4, C-7
7	7,43 (d, $J = 15.9$ Hz, 1H)	145,6	-	C-2, C-6, C-9
8	6,22 (d, $J = 15.9$ Hz, 1H)	113,5	C-9	C-1
9	-	166,0	-	-
1'	-	127,7	-	-
2'	6,68 (d, $J = 1.9$ Hz)	116,7	-	C-4', C-6', 7'b
3'	-	145,0	-	-
4'	-	143,9	-	-
5'	6,63 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H)	115,4	-	C-1', C-3'
6'	6,51 (dd, $J = 8.0$ e 1.9 Hz)	120,0	-	C-2', C-4'
7'a	2,87 (dd, $J = 14.3$ e 8.8 Hz, 1H)	36,3	C-1'	C-2', C-6', C-9'
7'b	2,99 (dd, $J = 14.2$ e 3.8 Hz, 1H)		C-1'	C-2', C-6', C-9'
8'	5,00 (dd, $J = 8.8$ e 3.8 Hz, 1H)	73,4	C-9'	C-9, C-1'
9'	-	171,1	-	-

Figura 12. Espectro de RMN ^1H (δ , DMSO- d_6 , 500) de *He-2*.

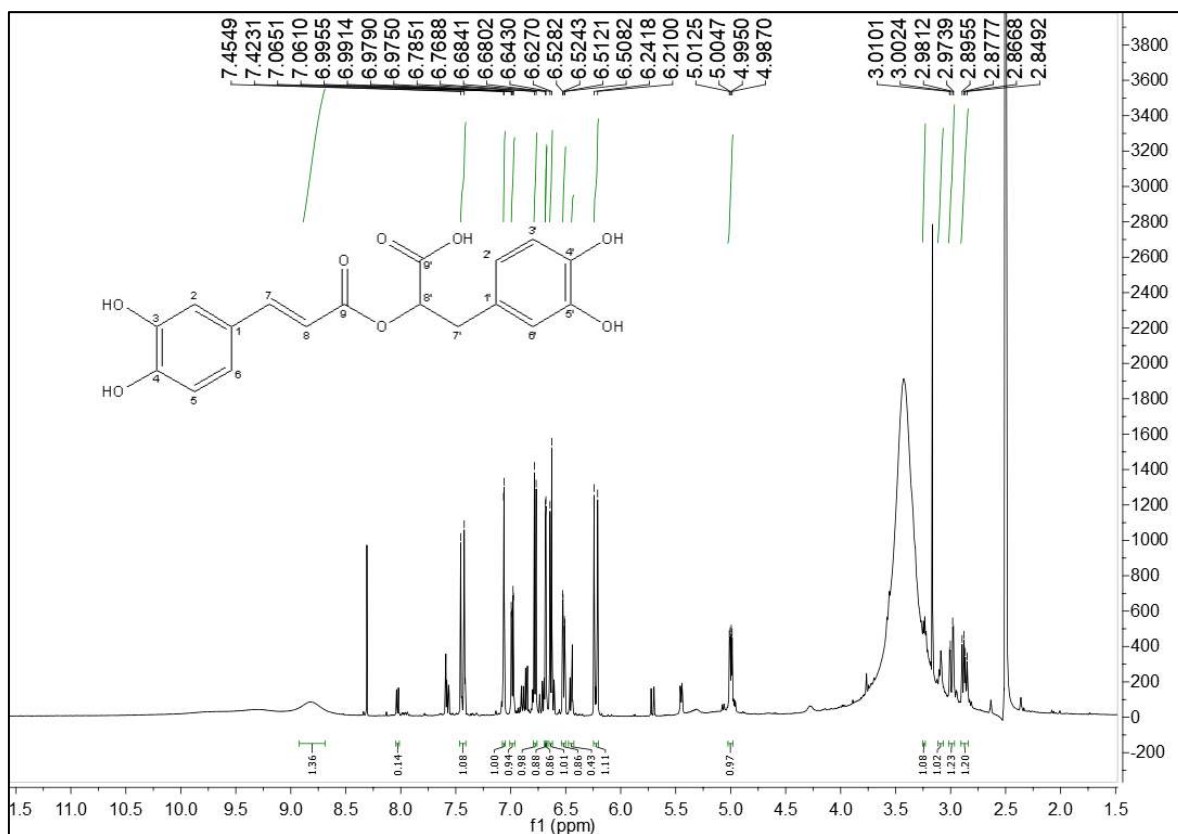


Figura 13. Expansão do espectro de RMN ^1H (δ , DMSO- d_6 , 500) de *He-2* na região entre 6,75 e 7,20 ppm.

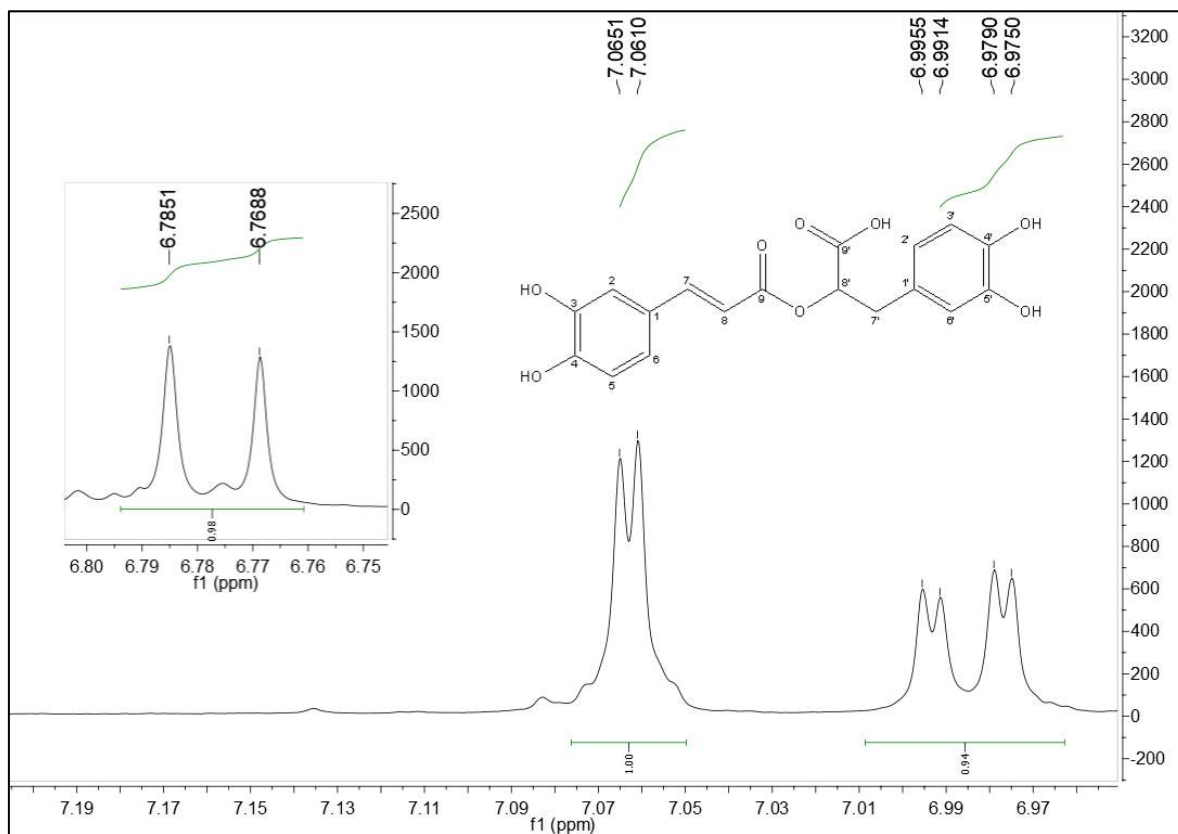


Figura 14. Expansão do espectro de RMN ^1H (δ , DMSO- d_6 , 500) de *He-2* na região entre 6,51 e 6,69 ppm.

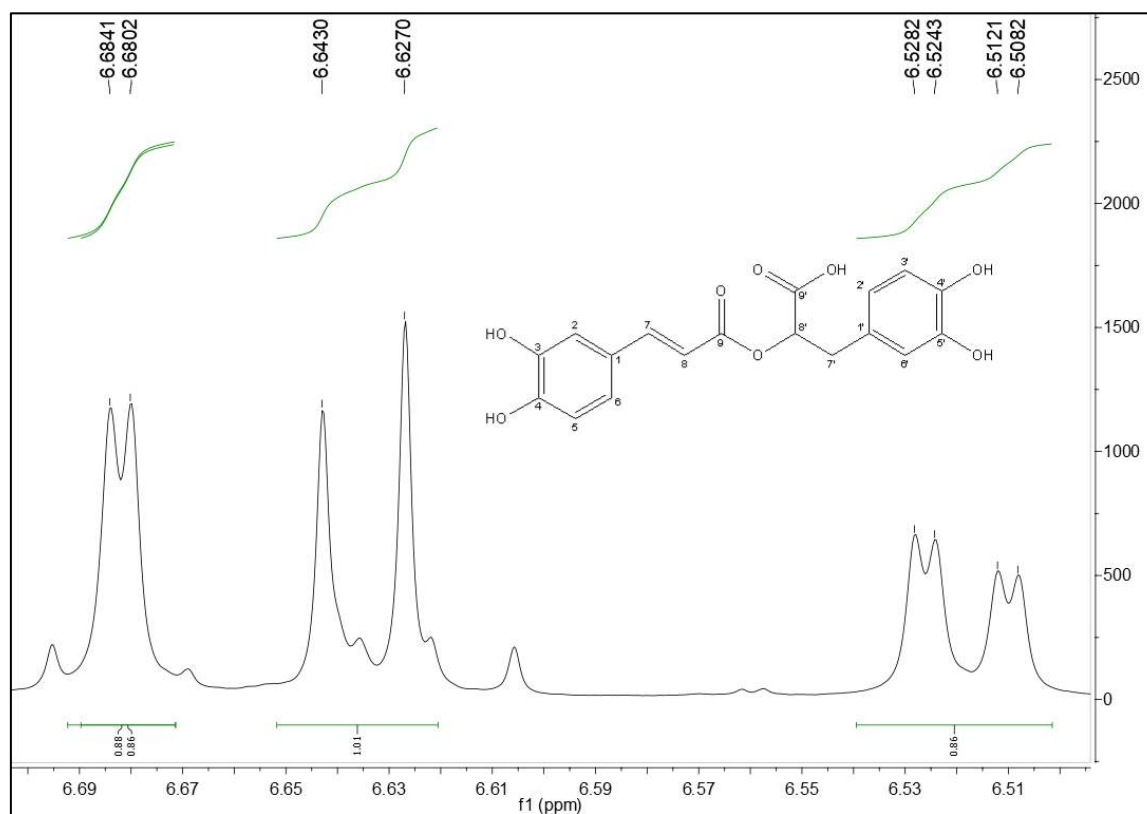


Figura 15. Expansão do espectro de RMN ^1H (δ , DMSO- d_6 , 500) de *He-2* na região entre 2,83 e 3,03 ppm.

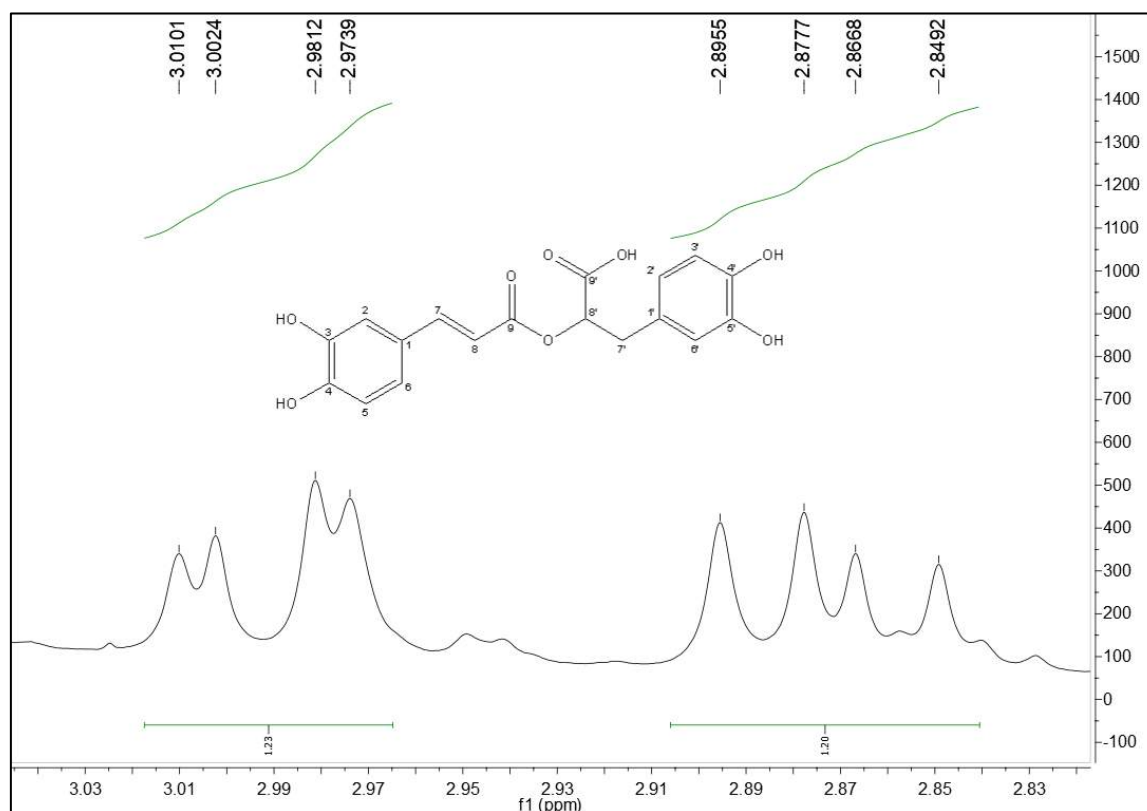


Figura 16. Expansão do espectro de RMN ^1H (δ , DMSO- d_6 , 500) de *He-2* na região entre 4,90 e 7,48 ppm.

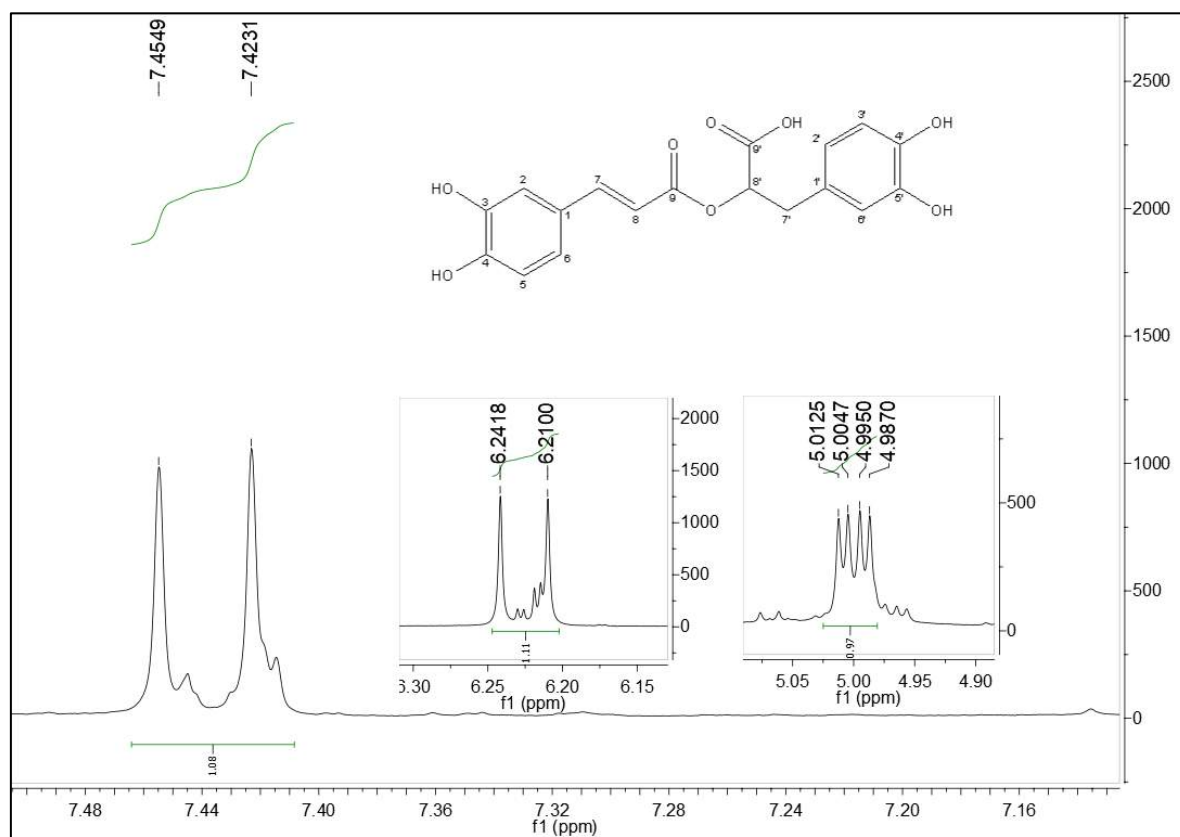


Figura 17. Espectro de RMN ^{13}C -APT (δ , DMSO- d_6 , 125) de *He-2*.

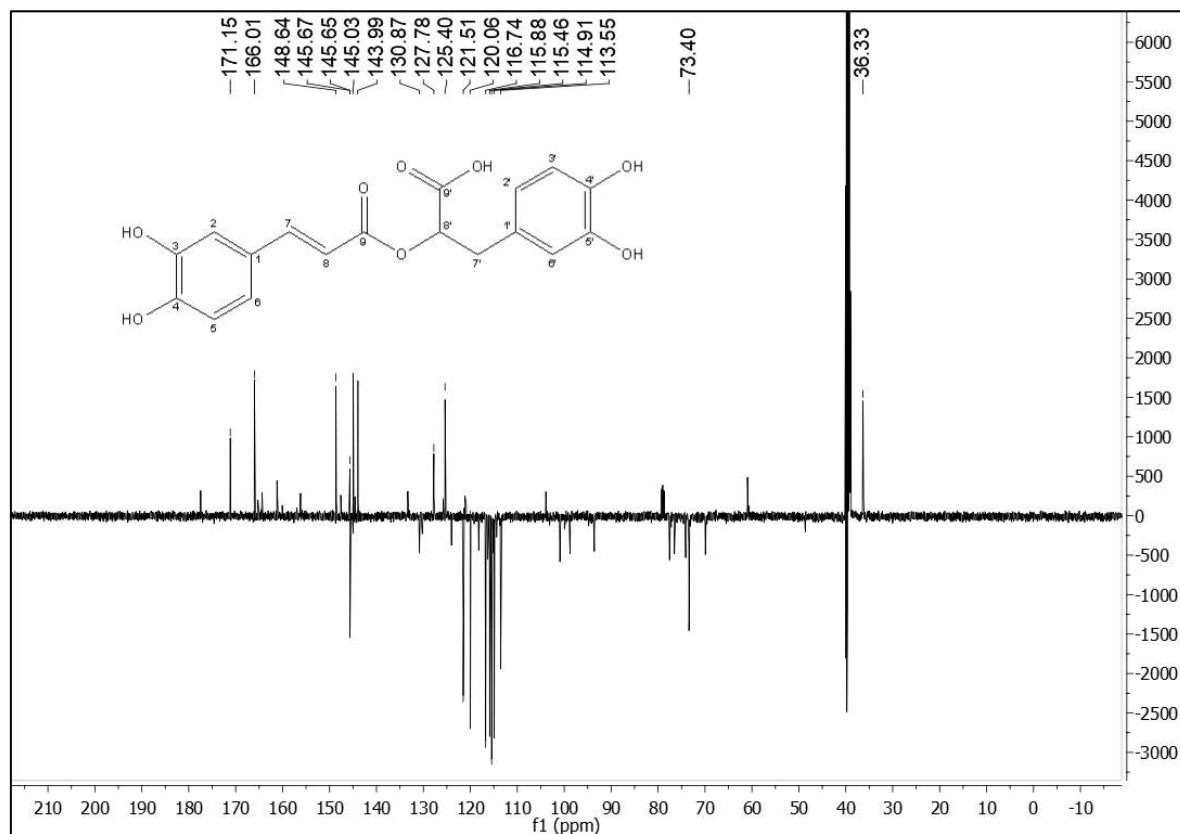


Figura 18. Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT (δ , DMSO- d_6 , 125) de *He-2* na região entre 140 e 173 ppm.

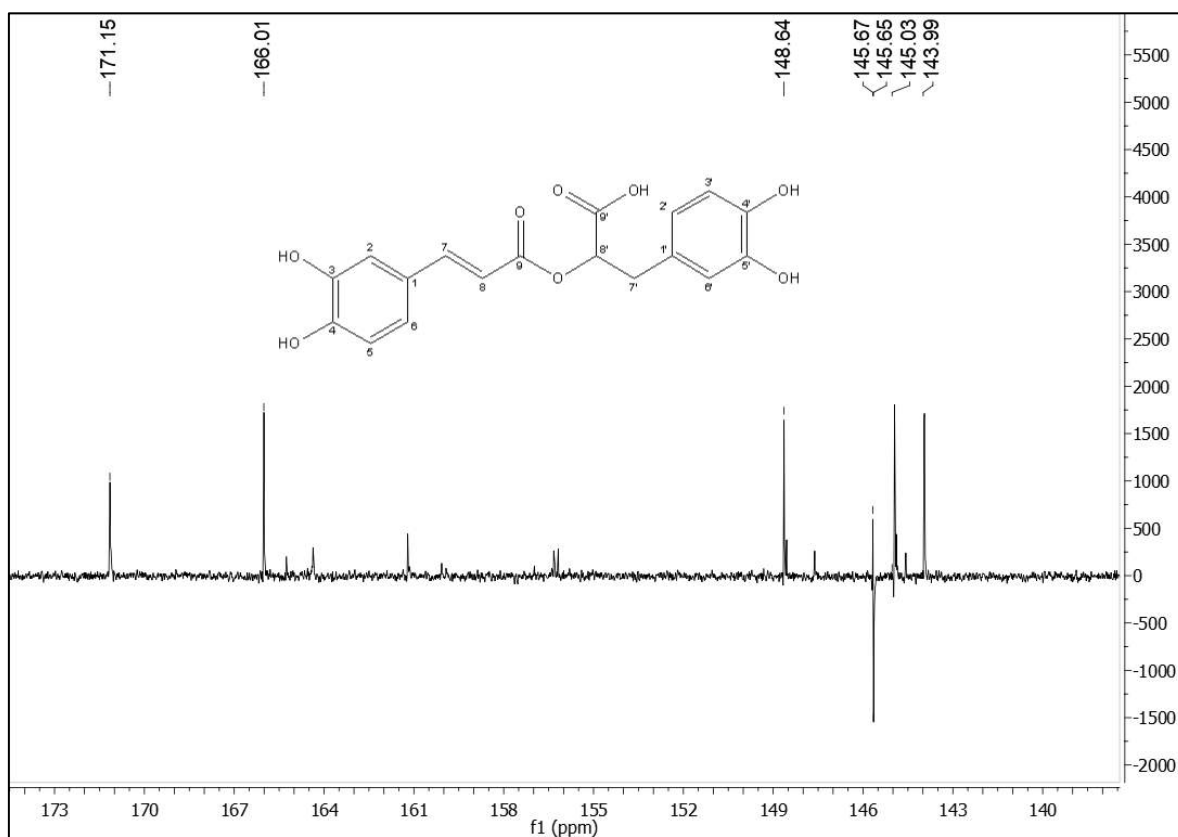


Figura 19. Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT (δ , DMSO- d_6 , 125) de *He-2* na região entre 82 e 134 ppm.

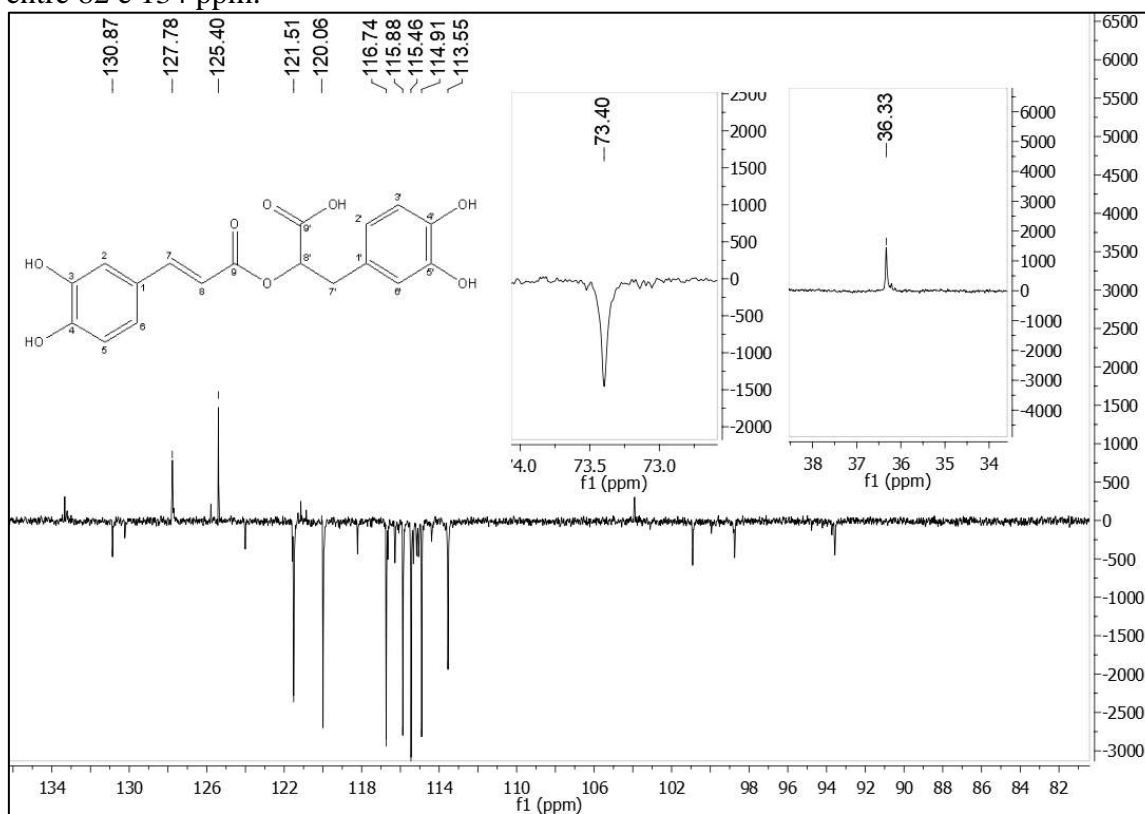


Figura 20. Espectro HMBC (δ , DMSO- d_6 , 500 e 125) de *He-2*.

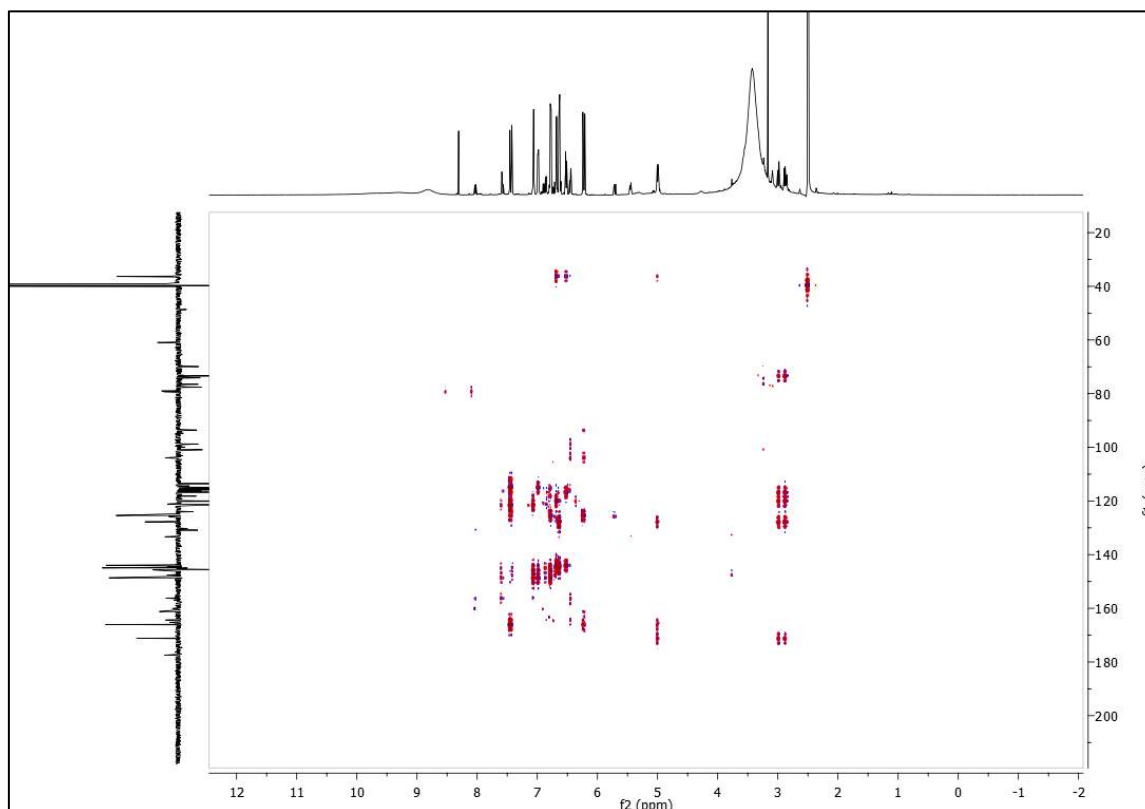


Figura 21. Expansão do espectro HMBC (δ , DMSO- d_6 , 500 e 125) de *He-2*.

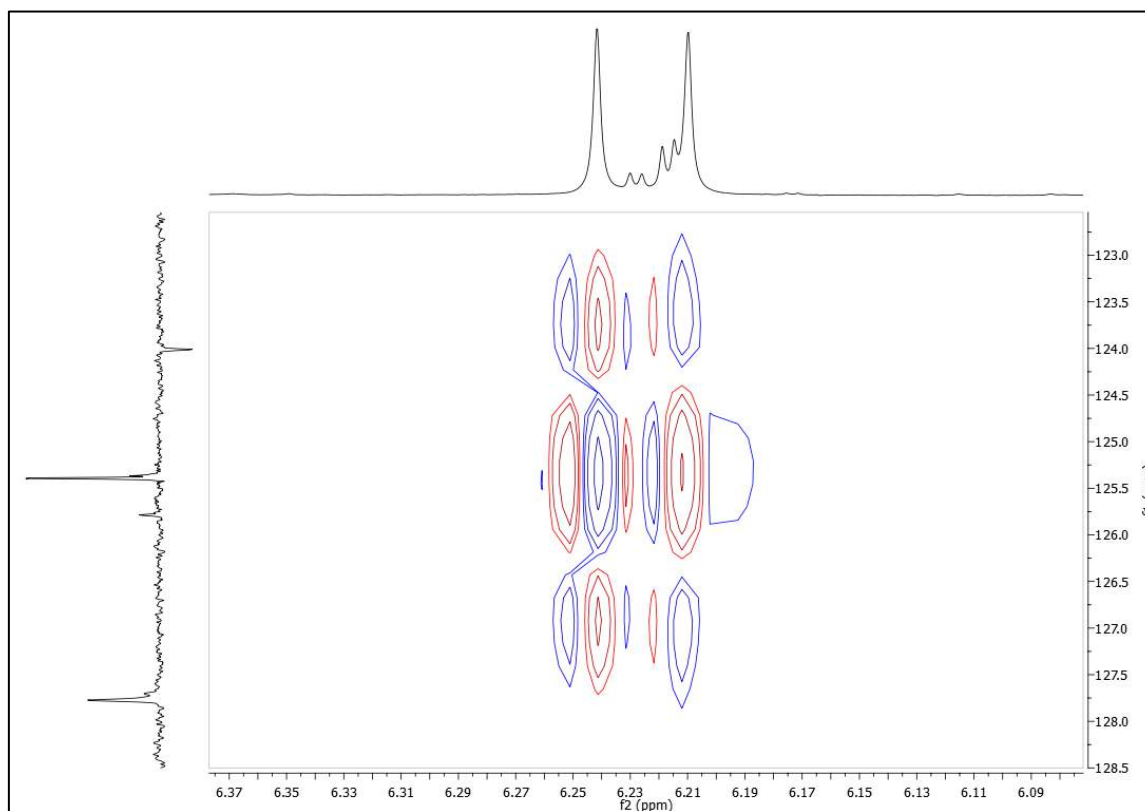


Figura 22. Expansão do espectro HMBC (δ , DMSO- d_6 , 500 e 125) de *He-2*.

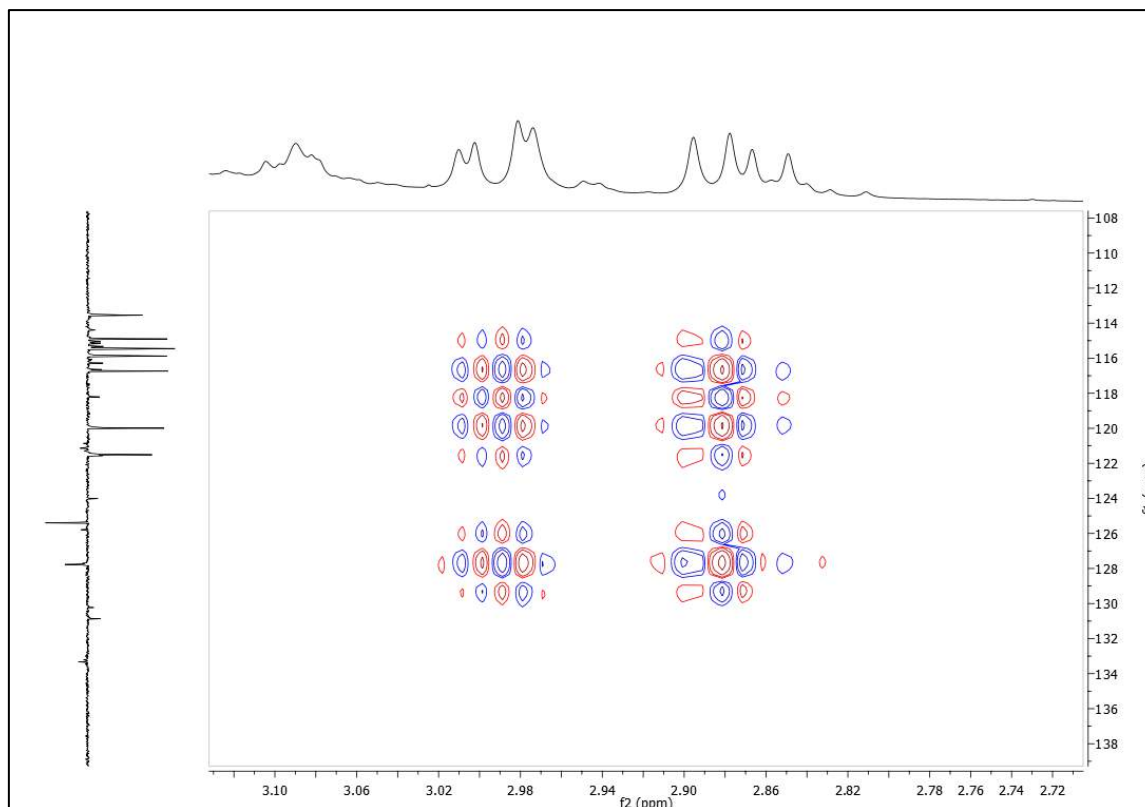
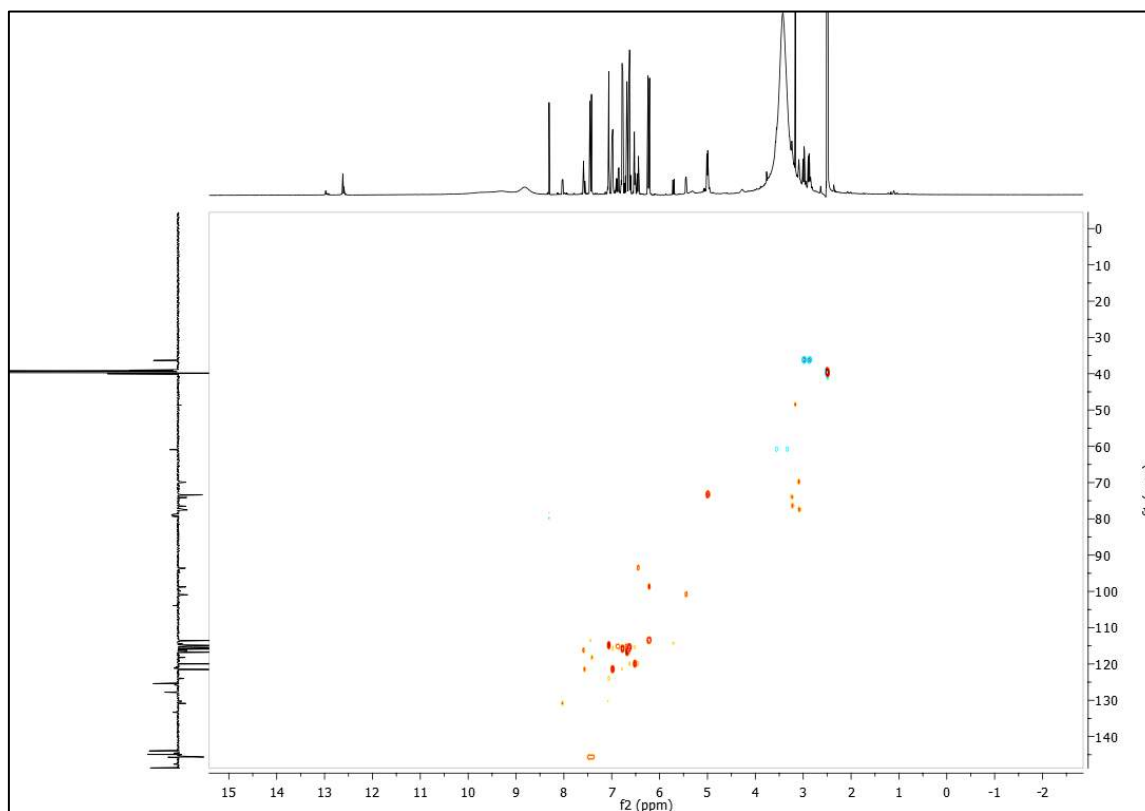


Figura 23. Espectro HSQC (δ , DMSO- d_6 , 500 e 125) de *He-2*.



5.2.3 Caracterização estrutural de *He-3*

A substância codificada como *He-3*, apresentou-se como cristais incolores no formato de agulha e ponto de fusão 137,5-138,3 °C.

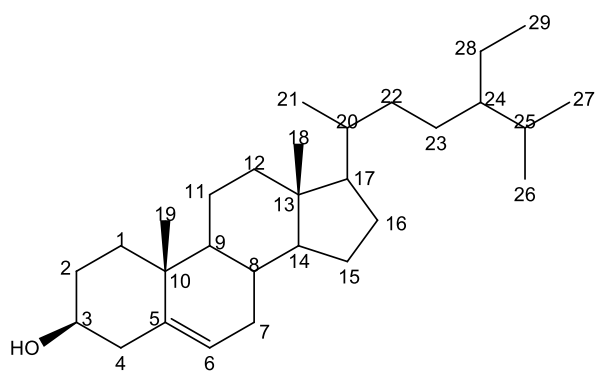
A análise do seu espectro de RMN ^1H (Figura 24, p. 72) exibiu um conjunto de absorções simples e múltiplas na região compreendida entre δ_{H} 0,65 e 2,26, característico de hidrogênios metílicos, metilênicos e metínicos, típico de substâncias com núcleo esteroidal e/ou triterpênico (CHAVES et al., 2013).

O multipeto observado em δ_{H} 3,50 permitiu inferir a presença de um hidrogênio oximetínico que pode ser atribuído a H-3 de fitoesteroides e terpenoides (COSTA et al., 2010). Por conseguinte, foi possível visualizar absorções característica de hidrogênio olefínico em δ_{H} 5,32 (d, $J = 5.1$ Hz) característico de H-6, sugestivo de que *He-3* possui núcleo esteroidal. Este dado foi fortalecido pelos sinais em δ_{H} 5,12 (dd, $J = 15.1$ e 8.5 Hz, 1H) e 4,99 (dd, $J = 15.2$ e 8.5 Hz, 1H) correspondente aos hidrogênios vinílicos H-22 e H-23, respectivamente, do composto estigmasterol (TELES et al., 2014).

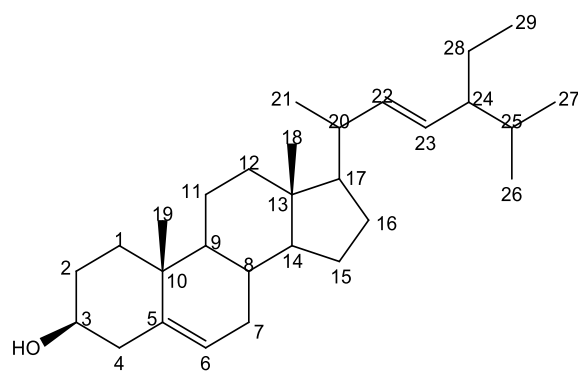
Dos quarenta e dois sinais exibidos pelo espectro de RMN ^{13}C (Figura 25, p. 72), as absorções em δ_{C} 71,9, 121,4 e 140,8 com intensidade para dois carbonos cada, puderam ser atribuídos aos carbonos C-3, C-6 e C-5, respectivamente, bem como os sinais em δ_{C} 138,4 (C-22) e 129,4 (C-23), permitiram propor que *He-3* tratar-se-ia de uma mistura do estigmasterol e outro esteroide (MACIEL et al., 2016). Essa proposta foi confirmada pelos sinais em δ_{C} 34,0 e 26,2 característicos dos carbonos metilênicos C-22 e C-23, respectivamente, do β -sitosterol (COSTA et al., 2009)

Os dados de RMN ^1H e ^{13}C e comparações com os valores obtidos na literatura (Tabela Tabela 4, p. 70 e 71) permitiram identificar *He-3* como uma mistura do β -sitosterol (*He-3a*) e o estigmasterol (*He-3b*), anteriormente isolados em diversas espécies da família Malvaceae *s.l* (COSTA et al., 2009; COSTA et al., 2010; CHAVES, et al., 2013; BRITO FILHO et al., 2014; MACIEL, et al., 2016). Entretanto, o estigmasterol é relatado pela primeira vez no gênero *Helicteres*.

Em estudo realizado com a espécie *Abutilon indicum* (Malvaceae), o composto β -sitosterol apresentou propriedades larvicidas sobre o *Aedes aegypti* (PONTUAL, 2010).



He-3a
 β -sitosterol



He-3b
Estigmasterol

Tabela 4. Dados comparativos de RMN ^1H e ^{13}C das substâncias *He-3a* e *He-3b* (δ , CDCl_3 , 400 e 100 MHz) com os modelos da literatura Mo-1 (δ , CDCl_3 , 400 e 100 MHz) (RASHED et al., 2014) e Mo-2 (δ , CDCl_3 , 500 e 125 MHz) (FORGO; KÖVÉR, 2004).

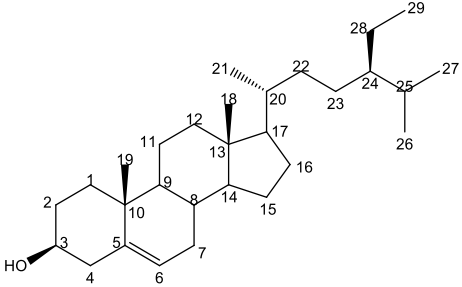
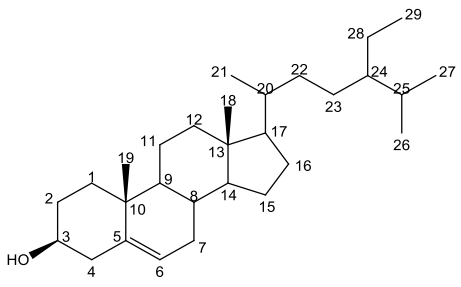
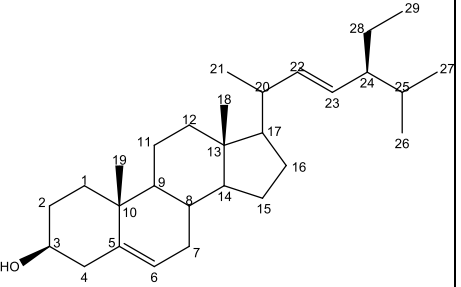
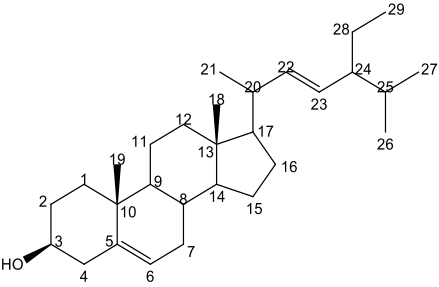
Mo-1 (β -Sitosterol)			<i>He-3a</i>		Mo-2 (Estigmasterol)		<i>He-3b</i>	
								
C	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
1	-	37,6	-	37,3	-	37,6	-	37,3
2	-	31,4	-	31,7	-	31,9	-	31,6
3	3,52 (m)	71,6	3,50 (m, 1H)	71,9	3,51 (m)	72,0	3,50 (m, 1H)	71,9
4	-	42,8	-	42,4	-	42,5	-	42,4
5	-	140,4	-	140,8	-	140,8	-	140,8
6	5,37 (m)	121,5	5,32 (d, $J = 5.1\text{Hz}$, 1H)	121,8	5,34 (m)	121,8	5,32 (d, $J = 5.1\text{ Hz}$, 1H)	121,8
7	-	31,7	-	32,0	-	32,1	-	32,0
8	-	31,7	-	32,0	-	32,2	-	32,0
9	-	50,3	-	50,2	-	50,5	-	50,2
10	-	36,7	-	36,5	-	36,5	-	36,5
11	-	21,1	-	21,2	-	21,2	-	21,2
12	-	39,8	-	39,9	-	40,0	-	39,8
13	-	42,8	-	42,4	-	42,2	-	42,3
14	-	56,4	-	56,9	-	57,1	-	57,1
15	-	24,5	-	24,4	-	24,5	-	24,5

Tabela 4 (continuação) Dados comparativos de RMN ^1H e ^{13}C das substância *He-3a* e *He-3b* (δ , CDCl_3 , 400 e 100 MHz) com os modelos da literatura Mo-1 (δ , CDCl_3 , 400 e 100 MHz) (RASHED et al., 2014) e Mo-2 (δ , CDCl_3 , 500 e 125 MHz) (FORGO; KÖVÉR, 2004).

Mo-1 (β -Sitosterol)			<i>He-3a</i>		Mo-2 (Estigmasterol)		<i>He-3b</i>	
C	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
16	-	28,4	-	28,3	-	28,9	-	29,0
17	-	57,2	-	56,2	-	56,3	-	56,0
18	0,75 (s)	-	0,65 (s)	12,0	0,70 (s)	12,2	0,67 (s)	12,1
19	1,09 (s)	19,5	0,98 (s)	19,5	1,01 (s)	19,5	0,98 (s)	19,5
20	-	35,9	-	36,2	-	40,4	-	40,6
21	0,98 (d)	18,6	-	18,9	-	21,4	-	21,3
22	-	34,2	-	34,0	5.17 (dd, $J = 15.2$ e 8.6 Hz, 1H)	138,3	5,12 (dd, $J = 15.1$ e 8.5 Hz, 1H)	138,4
23	-	26,2	-	26,2	5.04 (dd, $J = 15.2$ e 8.6 Hz, 1H)	129,7	4,99 (dd, $J = 15.2$ e 8.5 Hz, 1H)	129,4
24	-	46,3	-	45,9	-	51,5	-	51,3
25	-	29,2	-	29,2	-	32,2	-	32,0
26	0,85 (d, $J = 6.7$ Hz)	19,8	-	19,9	0.85 (d)	21,2	-	19,9
27	0,81 (d, $J = 6.7$ Hz)	19,2	-	19,1	0.80 (d)	19,2	-	19,1
28	-	23,4	-	23,2	-	25,4	-	25,5
29	0,92 (t, $J = 7.4$ Hz)	-	0,78 (s)	12,2	0.81 (t)	12,2	0,78(s)	12,3

Figura 24. Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de *He-3*.

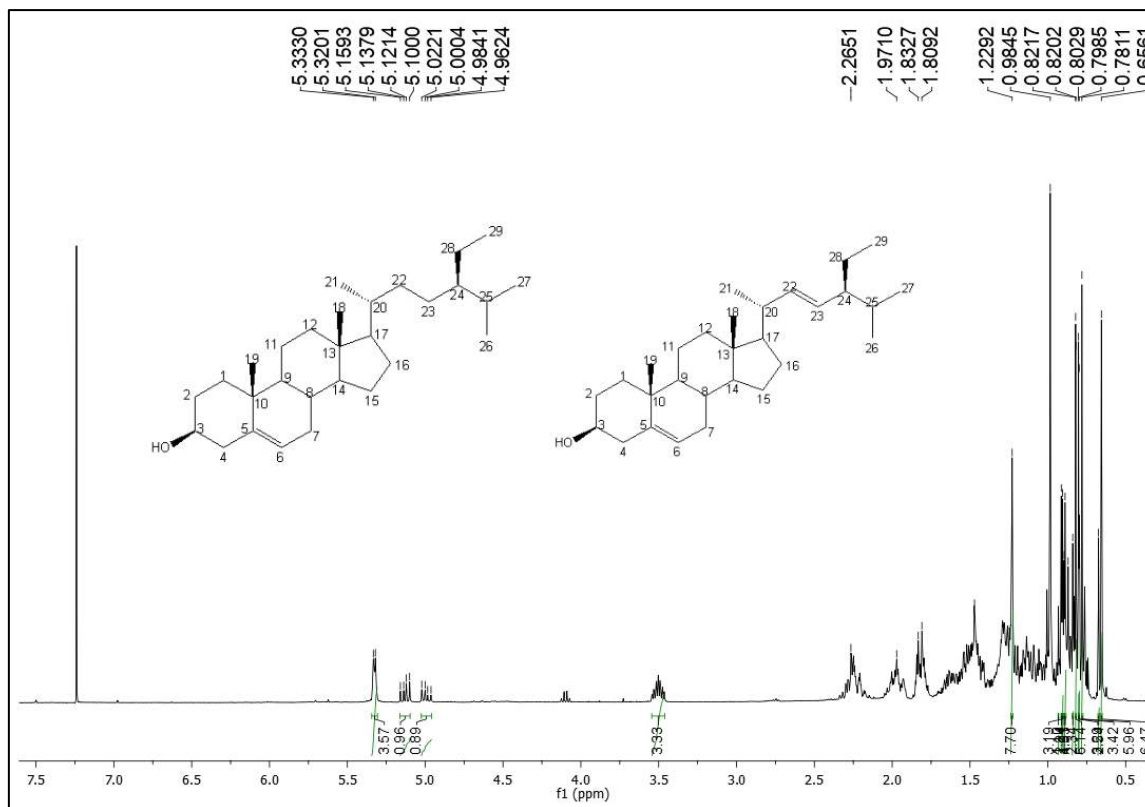
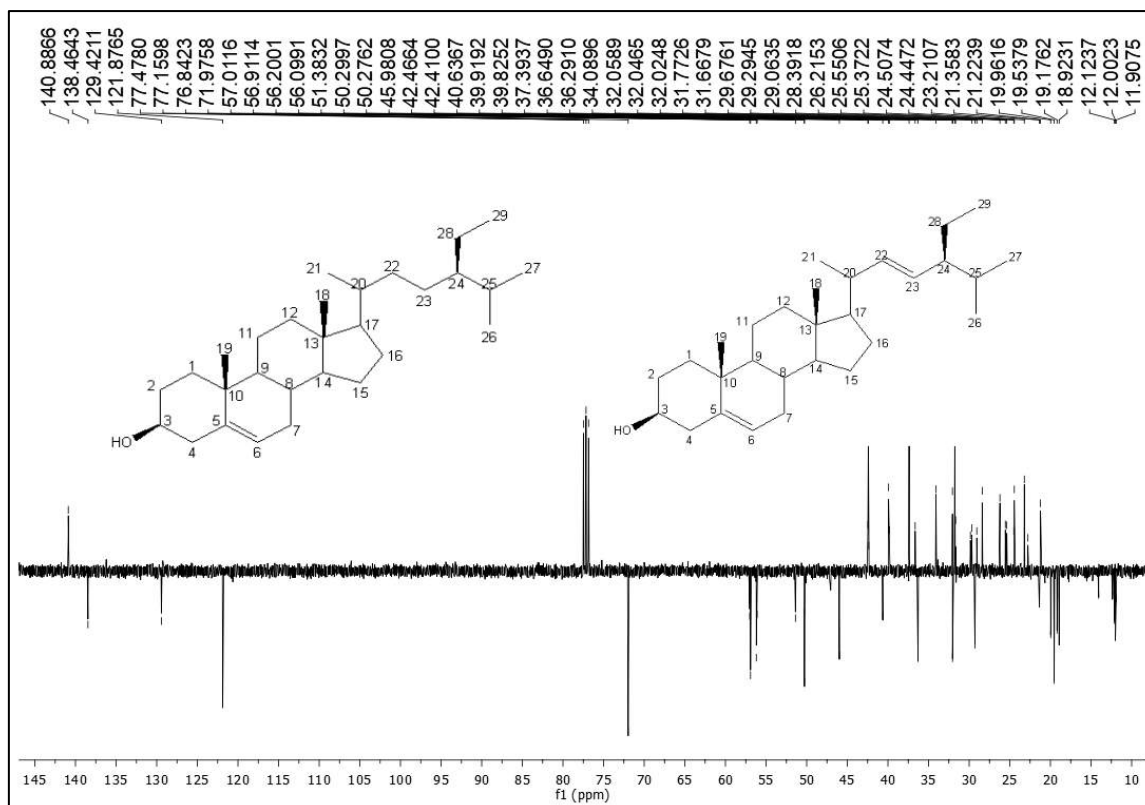


Figura 25. Espectro de RMN ^{13}C -APT (δ , CDCl_3 , 100 MHz) de *He-3*.



5.2.4 Caracterização estrutural de *He-4*

A substância nomeada como *He-4* apresentou-se na forma de pó. Ao se avaliar o seu espectro de RMN ^1H (Figura 26, p. 77), este mostrou um leque de absorções na região entre δ_{H} 0,77 e 2,05, característicos de hidrogênios metílicos, metilênicos e metínicos, sugestivo de substâncias que comportam esqueleto triterpênico, fato que levou a sugerir este núcleo para a molécula em análise (PAVIA, 2015).

Este perfil espectroscópico foi evidenciado com a identificação de sete sinais, em δ_{H} 0,77; 0,83; 0,95; 0,98; 0,99; 1,03 e 1,70, equivalentes a sete grupos de hidrogênios metílicos (Figura 27, p. 77), condizentes com metilas nas posições H-23, H-24, H-25, H-26, H-27, H-28 e H-30, típico de núcleo triterpênico. Sendo o sinal em δ_{H} 1,70 indicativo de hidrogênios de um grupo metila ligado a carbono com hibridização sp^2 , permitindo sugerir que *He-4* pertence a série lupano (GOIS, 2010).

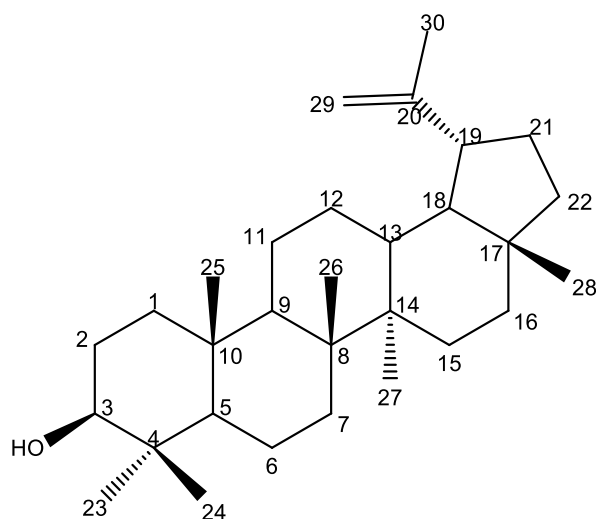
A presença de dois dupletos em δ_{H} 4,70 (d, $J = 2.1$ Hz) e 4,75 (d, $J = 2.1$ Hz), com integral para um hidrogênio cada, típico de hidrogênios geminais olefínicos H-29 (Figura 28, p. 78), fortaleceu a sugestão de que *He-4* possui núcleo triterpênico do tipo lupano. Este espectro revelou, adicionalmente, uma absorção em δ_{H} 3,20 (dd, $J = 11.1, 4.9$ Hz), integrando para um átomo de hidrogênio, podendo inferir a presença de um hidrogênio ligado a carbono oximetínico na posição C-3 (ALHASSAN et al., 2018).

A partir do espectro de RMN ^{13}C usando a técnica APT (Figura 29 e 32, p. 78 e 80), foi possível identificar sinais para sete carbonos metílicos, dez metilênicos, sete metínicos e cinco não hydrogenados (TELLES et al., 2015). Acrescido das absorções (Figura 28, p. 78) atribuídas aos carbonos C-29 (δ_{C} 109,8) e C-20 (δ_{C} 150,5) de grupo vinil da série lupano, propondo que *He-4* trata-se do lupeol (SILVA et al., 2010; GOIS, 2010).

Ao identificar no espectro de RMN ^{13}C um sinal em δ_{C} 79,1, referente a carbono oximetínico, juntamente com absorções em δ_{C} 38,9 (C-1) e δ_{C} 28,1 (C-23), fortalece a proposta de uma substituição na posição C-3 em *He-4*, permitindo inferir a presença de um grupo hidroxila em equatorial. Nesse contexto, a blindagem do carbono metílico C-24 pode ser relacionada à influência do grupo hidroxila adjacente C-3 (SOUZA et al, 2001).

A análise dos espectros de RMN ^1H e ^{13}C em conjunto com os dados obtidos na literatura (Tabela 5, p. 75 e 76), fortificaram a identificação do composto como sendo o triterpeno da série lupano, lup-20(29)-en-3 β -ol, conhecido como lupeol, composto relatado pela primeira vez no gênero *Helicteres*.

O lupeol é presente em muitos frutos e plantas medicinais, e que pode apresentar as mais variadas atividades biológicas como: anti-inflamatória, antitumoral, gastroprotetora e antiplasmódica (ALVES et al., 1997; ALI et al., 1998; SALEEM et al., 2001; NAVARRETE et al., 2002).



He-4

lup-20(29)-en-3 β -ol
(Lupeol)

Tabela 5. Dados comparativos de RMN ^1H e ^{13}C da substância *He-4* (δ , CDCl_3 , 400 e 100 MHz) com os modelos da literatura Mo-1 (δ , CDCl_3 , 200 e 50 MHz) (SILVA et al., 2017) e Mo-2 (δ , CDCl_3 , 300 e 75 MHz) (MIRANDA, GARCEZ, GARCEZ, 2015).

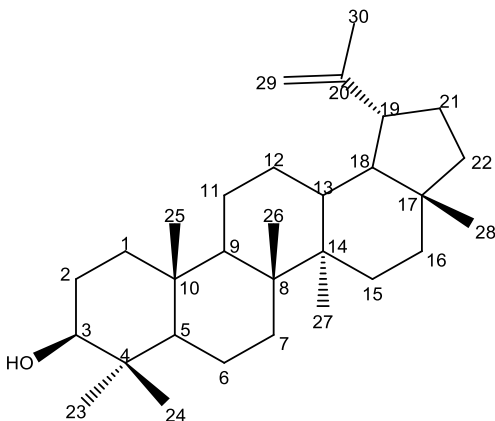
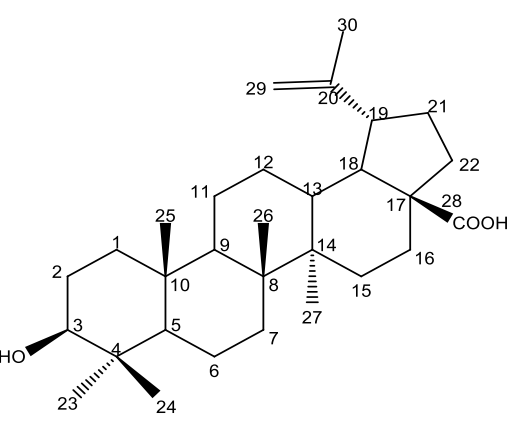
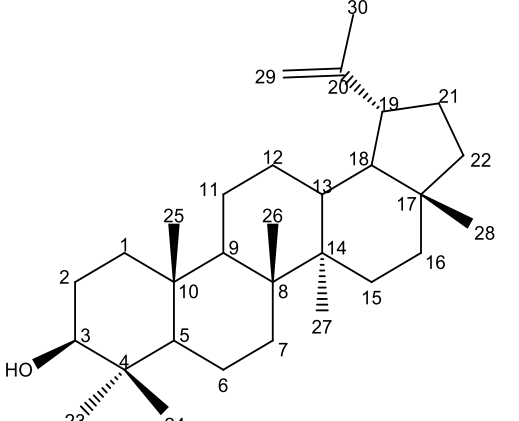
Mo-1 (Lupeol)			Mo-2 (Ácido betulínico)		<i>He-4</i>	
						
C	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
1	-	38,0	-	38,7	-	38,9
2	-	27,4	-	27,4	-	27,5
3	3,21 (dd, $J = 6.0$ e 2.0 Hz)	79,0	3,13 (dd, $J = 10.6$ e 5.4 Hz)	79,0	3,20 (dd, $J = 11.1$ e 4.9 Hz, 1H)	79,1
4	-	38,7	-	38,8	-	39,5
5	-	55,3	-	55,3	-	55,4
6	-	18,3	-	18,3	-	18,4
7	-	34,3	-	34,2	-	34,4
8	-	40,8	-	40,7	-	40,8
9	-	50,4	-	50,5	-	50,6
10	-	37,2	-	37,0	-	37,1
11	-	20,9	-	20,8	-	20,9
12	-	25,1	-	25,5	-	25,6
13	-	38,8	-	38,3	-	38,8
14	-	42,8	-	42,4	-	42,5

Tabela 5 (continuação). Dados comparativos de RMN ^1H e ^{13}C da substância *He-4* (δ , CDCl_3 , 400 e 100 MHz) com os modelos da literatura Mo-1 (δ , CDCl_3 , 200 e 50 MHz) (SILVA et al., 2017) e Mo-2 (δ , CDCl_3 , 300 e 75 MHz) (MIRANDA, GARCEZ, GARCEZ, 2015).

Mo-1 (Lupeol)			Mo-2 (Ácido betulínico)		<i>He-4</i>	
C	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
15	-	27,4	-	30,5	-	27,1
16	-	35,6	-	32,2	-	35,3
17	-	43,0	-	56,3	-	42,8
18	-	48,3	1,78 (m)	46,8	-	47,9
19	-	48,0	-	49,2	-	47,0
20	-	151,9	-	150,4	-	150,5
21	-	29,8	-	30,2	-	30,6
22	-	40,0	-	37,1	-	40,8
23	-	28,0	0,87 (s)	27,9	0,99 (s)	28,1
24	-	15,3	0,76 (s)	15,3	0,77 (s)	15,4
25	-	16,1	0,82 (s)	16,0	0,92 (s)	16,2
26	-	16,0	0,69 (s)	16,1	1,03 (s)	16,1
27	-	14,5	0,90 (s)	14,7	0,98 (s)	14,8
28	-	18,0	-	181,2	0,83 (s)	17,6
29a	4,57 (s)	109,3	4,54 (sl)	119,7	4,70 (d, $J = 2.1$ Hz, 1H)	109,8
29b	4,68 (s)		4,65 (sl)		4,76 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H)	
30	1,67 (s)	19,3	1,63 (s)	19,3	1,70 (s)	19,50

Figura 26. Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de *He-4*.

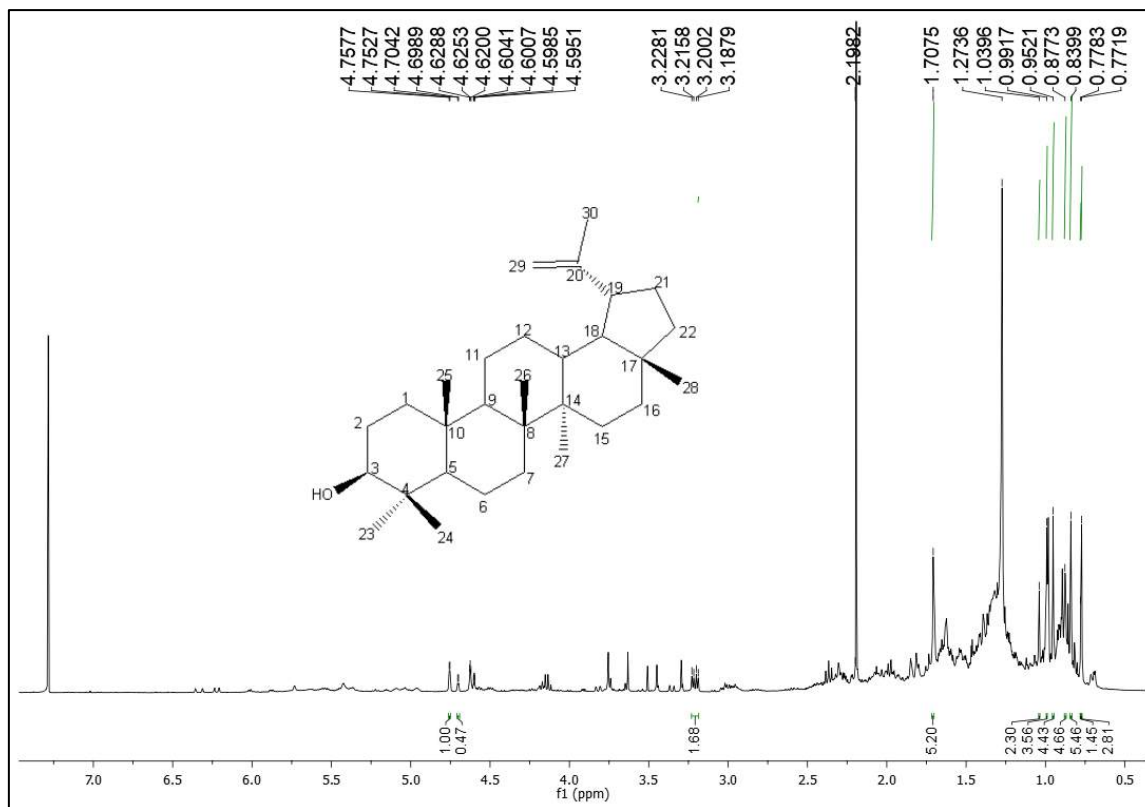


Figura 27. Expansão do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de *He-4* na região entre 0,75 e 1,75 ppm.

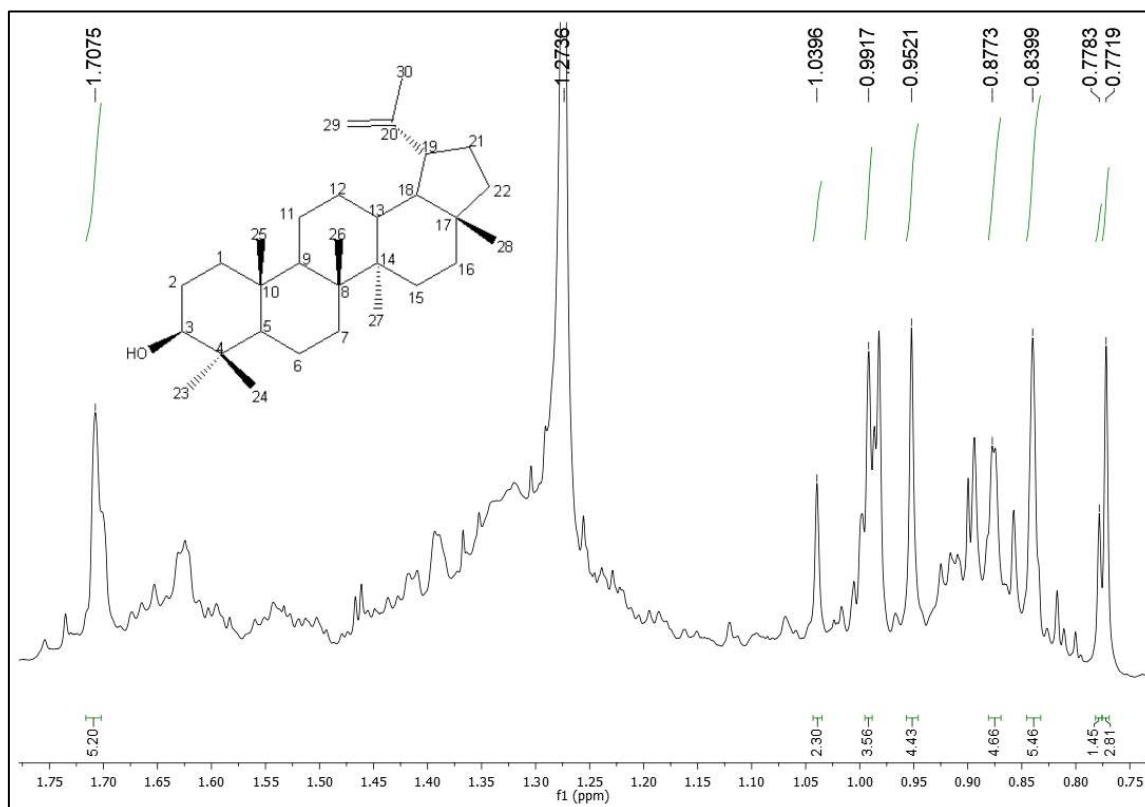


Figura 28. Expansão do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de *He-4* na região entre 4,66 e 4,94 ppm.

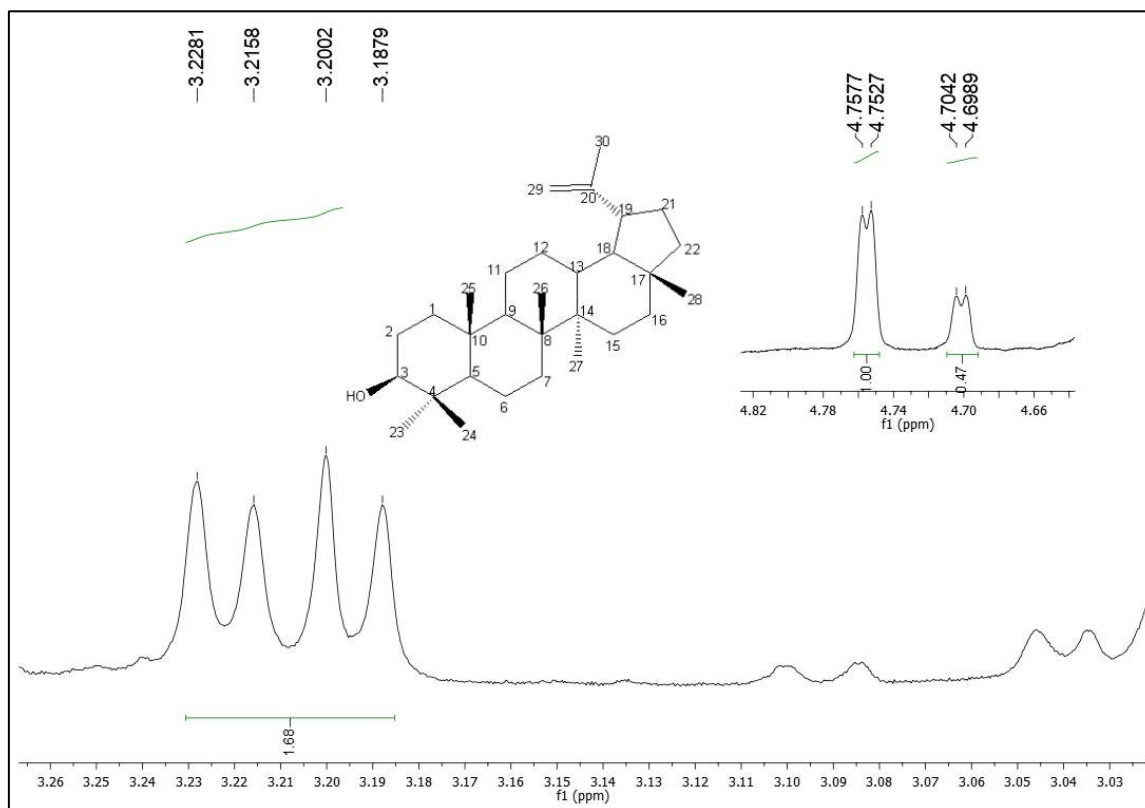


Figura 29. Espectro de RMN ^{13}C -APT (δ , CDCl_3 , 100 MHz) de *He-4*.

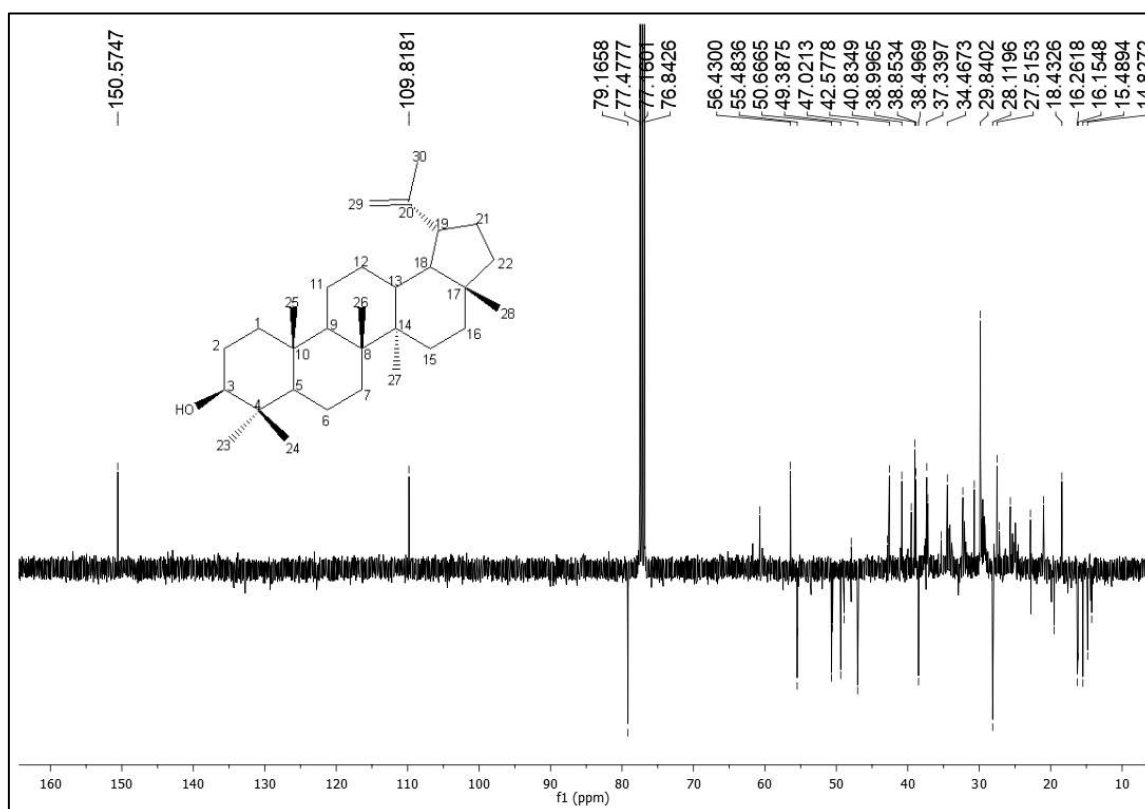


Figura 30. Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT (δ , CDCl_3 , 100 MHz) de *He-4* na região entre 14,2 e 28,1 ppm.

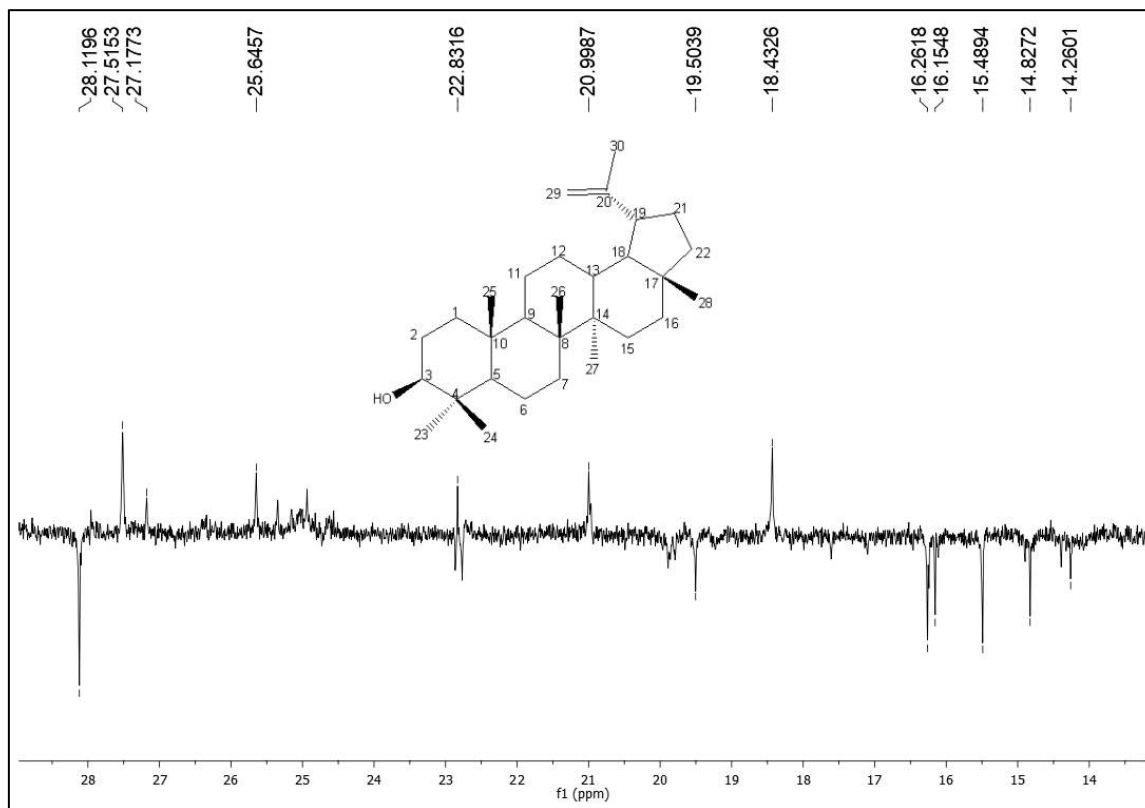


Figura 31. Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT (δ , CDCl_3 , 100 MHz) de *He-4* na região entre 90 e 165 ppm.

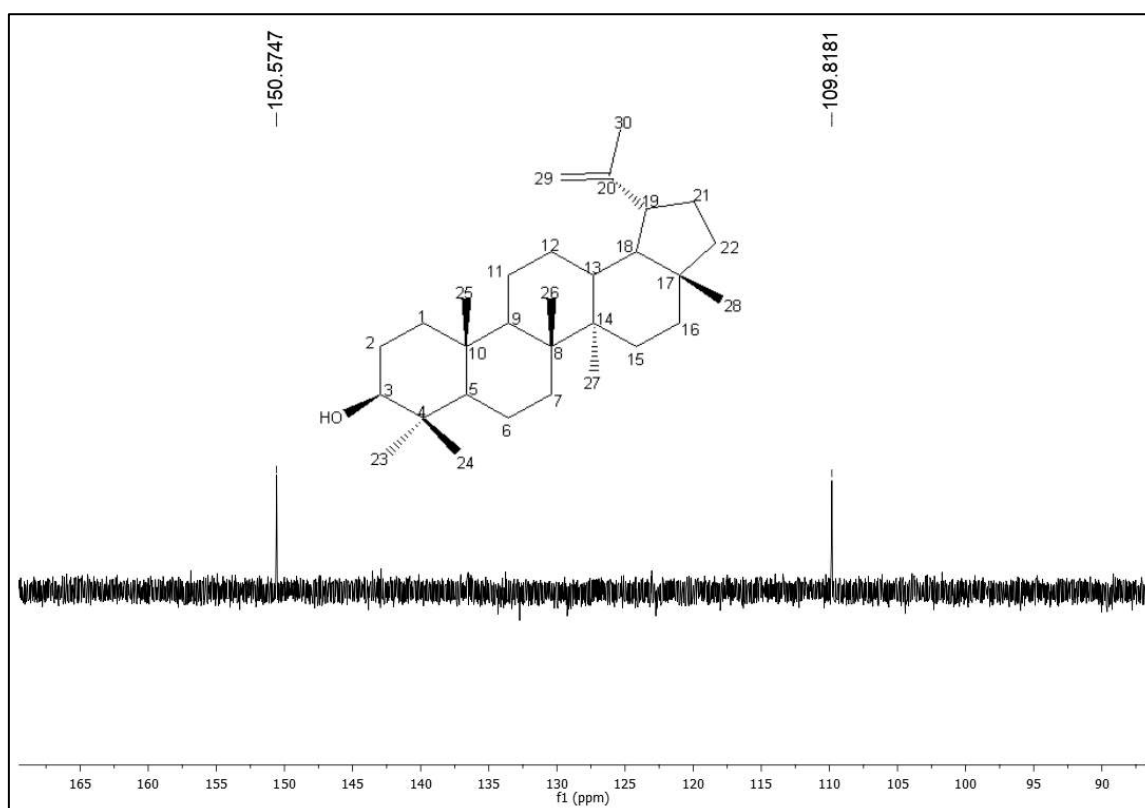
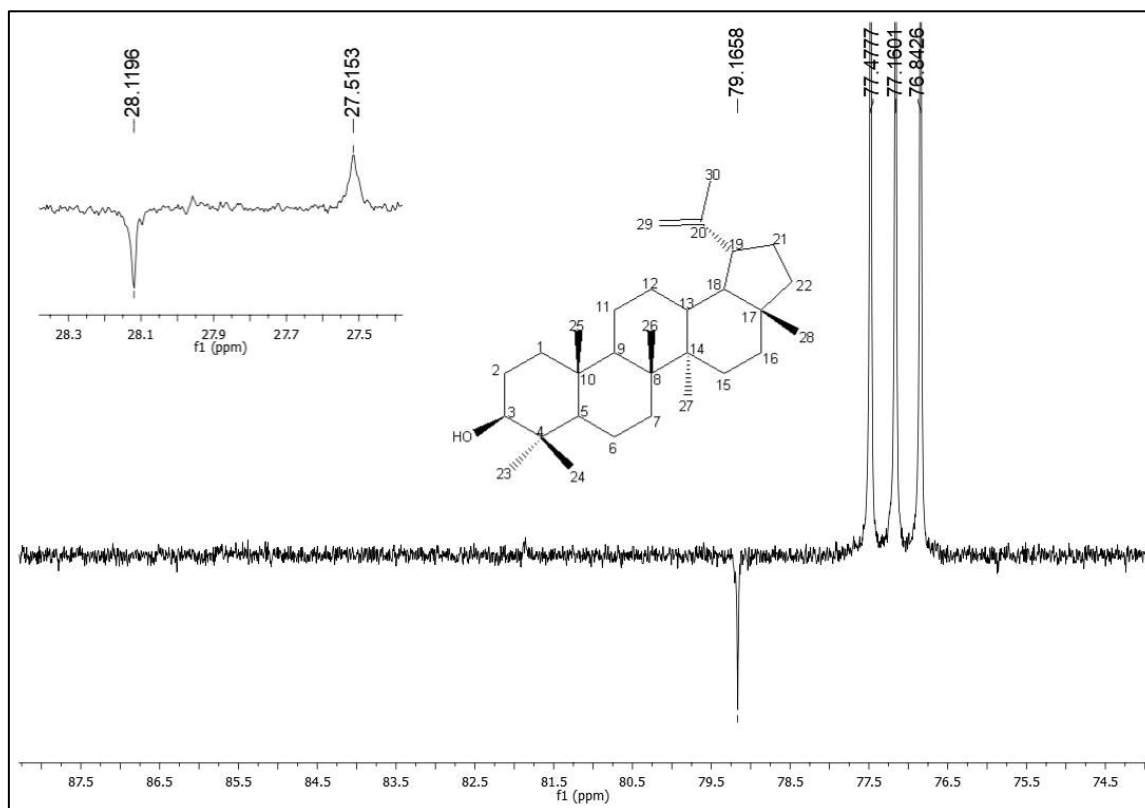


Figura 32. Epansão do espectro de RMN ^{13}C -APT (δ , CDCl_3 , 100 MHz) de *He-4* na região entre 74,5 e 87,5 ppm.



5.2.5 Caracterização estrutural de *He-5*

A substância denominada como *He-5* apresentou-se na forma de pó branco amorfo. O seu espectro de RMN ^1H (Figura 33, p. 84), exibiu um conjunto de sinais de alta multiplicidade entre δ_{H} 0,67 e 2,2, indicativo de hidrogênios metílicos, metilênicos e metínicos de terpenos ou esteroides (PAVIA, 2010).

Dois tripletos, um de maior intensidade em δ_{H} 5,12 (t, $J = 3.5$ Hz) e outro em δ_{H} 5,15 (t, $J = 3.5$ Hz) (Figuras 34, p. 84), atribuídos a hidrogênios olefínicos H-12 em triterpenos com dupla ligação endocíclica nos carbonos C-12 e C-13, levando a propor que *He-5* poderia tratar-se de uma mistura de triterpenos da série ursano e oleanano, respectivamente (LUCENA, 2012). Adicionalmente, este espectro apresentou um duplo duplete em δ_{H} 2,73 (dd, $J = 3.6$ e 13.6 Hz), atribuído ao hidrogênio H-18 que acopla axial-equatorial e axial-axial, respectivamente, com H-19, característico da série oleanano (JEFFREYS, NUNEZ, 2016).

O espectro de RMN ^{13}C utilizando a técnica APT (Figuras 35 a 37, p. 85 a 86), revelou a existência de sinais para 49 átomos de carbono metílicos, metilênicos, metínicos e não

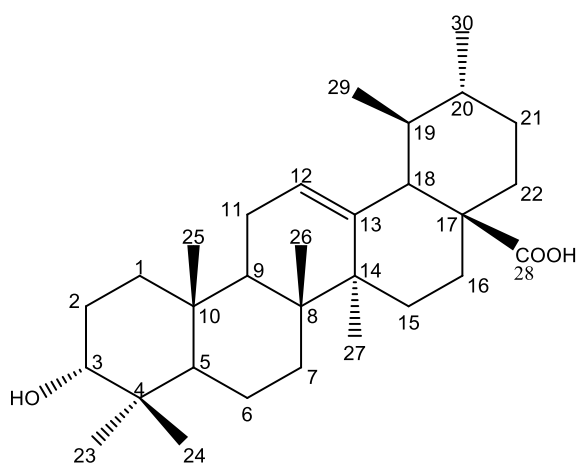
hidrogenados, fortalecendo a sugestão de que *He-5* tratava-se de uma mistura de triterpenos da série ursano e oleanano.

Os sinais em δ_C 124,6 e δ_C 138,2 característicos de carbonos sp^2 C-12 (metílico) e C-13 (não-hidrogenado) de triterpeno do tipo ursano, juntamente com os sinais em δ_C 121,5 (C-12) e δ_C 143,8 (C-13) referentes a estrutura da série oleanano foram comparados com dados da literatura dos referidos núcleos triterpênicos (CUNHA et al., 2017).

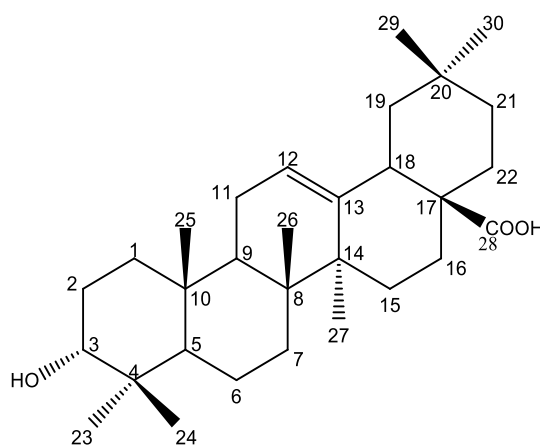
Ainda no espectro de RMN ^{13}C (Figuras 37, p. 86), o sinal intenso em δ_C 76,9 (C-3), juntamente com o deslocamento químico em δ_C 178,3 e outro com menor intensidade em δ_C 178,6, permitiram sugerir que a mistura de triterpenos possui grupo hidroxila na posição C-3 e função ácida na posição C-28, padrão de substituição característico de triterpenos, corroborando com a proposta inicial (MIRANDA, GARCEZ, GARCEZ, 2015).

As análises dos espectros de RMN 1H e ^{13}C , e comparações com dados da literatura (Tabela 6, p. 82 e 83) permitiram identificar *He-5* como sendo uma mistura dos ácidos 3- α -hidróxi-urs-12-en-28-óico (*He-5a*) e 3- α -hidroxi-olean-12-en-28-óico (*He-5b*), na proporção de 3:1.

Estudos realizados anteriormente relatam o isolamento do ácido 3- α -hidróxi-urs-12-en-28-óico das espécie *Brillantaisia palisatii* (BERRONDO et al., 2003) e *Mentha aquatica* (FERHAT et al., 2017) e, do ácido 3- α -hidroxi-olean-12-en-28-óico de *Calceolaria pinifolia* (WOLDEMICHAEL et al., 2003). Entretanto, estas substâncias são descritas pela primeira vez no gênero *Helicteres*.



He-5a
Ácido 3- α -hidróxi-urs-12-en-28-óico



He-5b
Ácido 3- α -hidroxi-olean-12-en-28-óico

Tabela 6. Dados comparativos de RMN ^1H e ^{13}C das substâncias *He-5a* e *He-5b* (δ , DMSO- d_6 , 400 e 100 MHz) com os modelos da literatura Mo-1 (δ , CDCl_3 , 200 e 50 MHz) (BERRONDO et al., 2003) e Mo-2 (δ , CDCl_3 , 500 e 125 MHz) (WOLDEMICHAEL et al., 2003).

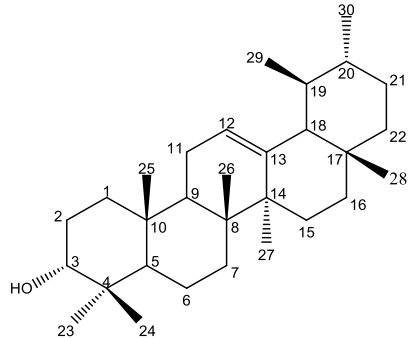
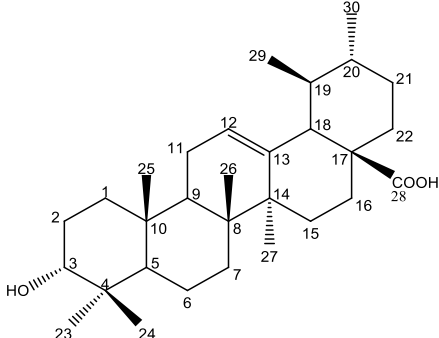
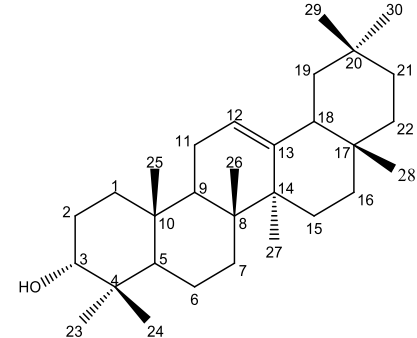
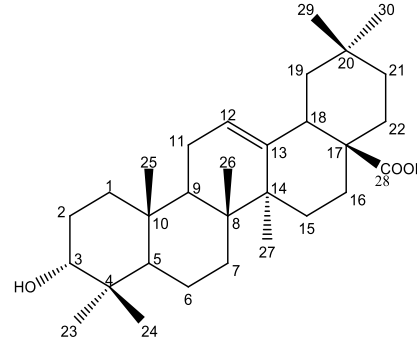
Mo-1 (ácido 3- α -hidróxi-urs-12-eno)			<i>He-5a</i>		Mo-2 (ácido 3- α -hidróxi-olean-12-eno)		<i>He-5b</i>	
								
C	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
1	-	37,8	-	36,5	-	36,7	-	36,3
2	-	27,7	-	27,5	-	25,2	-	27,0
3	3,50 (m)	75,5	-	76,9	3,39 (t, $J = 2.7$ Hz)	76,2	-	76,9
4	-	38,8	-	38,4	-	37,2	-	38,2
5	-	55,3	-	54,8	-	49,0	-	52,4
6	-	18,4	-	18,0	-	18,2	-	18,0
7	-	32,9	-	32,7	-	32,8	-	32,7
8	-	39,5	-	39,5	-	39,4	-	39,5
9	-	47,4	-	47,0	-	47,4	-	47,0
10	-	37,0	-	36,5	-	37,3	-	36,5
11	-	23,3	-	22,9	-	22,9	-	23,6
12	5,10 (t, $J = 3.2$ Hz)	121,5	5,12 (t, $J = 3.5$ Hz)	124,6	5,25 (t, $J = 3.4$ Hz, 1H)	122,7	5,15 (t, $J = 3.5$ Hz)	121,5
13	-	140,5	-	138,2	-	143,6	-	143,8
14	-	42,0	-	41,7	-	41,6	-	41,7
15	-	27,9	-	27,5	-	27,6	-	27,5

Tabela 6 (continuação). Dados comparativos de RMN ^1H e ^{13}C das substâncias *He-5a* e *He-5b* (δ , DMSO- d_6 , 400 e 100 MHz) com os modelos da literatura Mo-1 (δ , CDCl_3 , 200 e 50 MHz) (BERRONDO et al., 2003) e Mo-2 (δ , CDCl_3 , 500 e 125 MHz) (WOLDEMICHAEL et al., 2003).

Mo-1 (ácido 3- α -hidróxi-urs-12-eno)			<i>He-5a</i>		Mo-2 (ácido 3- α -hidroxi-olean-12-eno)		<i>He-5b</i>	
C	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
16	-	24,2	-	23,8	-	23,3	-	23,8
17	-	47,2	-	46,9	-	46,5	-	46,9
18	-	52,8	-	52,4	2,80 (dd, $J = 4.4$ e 13.7 Hz)	40,9	2,73(dd, $J = 3.6$ e 13.6 Hz)	40,8
19	-	-	-	38,5	-	45,9	-	45,5
20	-	38,8	-	38,4	-	30,7	-	30,4
21	-	30,7	-	30,2	-	33,8	-	33,9
22	-	36,7	-	36,3	-	32,5	-	32,7
23	-	28,4	-	28,3	0,93 (s, 3H)	28,3	-	28,2
24	-	22,5	-	21,1	0,81 (s, 3H)	22,2	-	21,1
25	-	15,7	-	16,1	0,94 (s, 3H)	15,1	-	15,1
26	-	16,6	-	17,0	0,72 (s, 3H)	17,2	-	16,9
27	-	23,6	-	23,3	1,12 (s, 3H)	26,1	-	25,6
28	-	178,0	-	178,3	-	180,1	-	178,6
29	-	16,5	-	16,9	0,88 (s, 3H)	33,1	-	32,8
30	-	21,4	-	21,1	0,92 (s, 3H)	23,6	-	23,3

Figura 33. Espectro de RMN ^1H (δ , DMSO- d_6 , 400 MHz) de *He-5*.

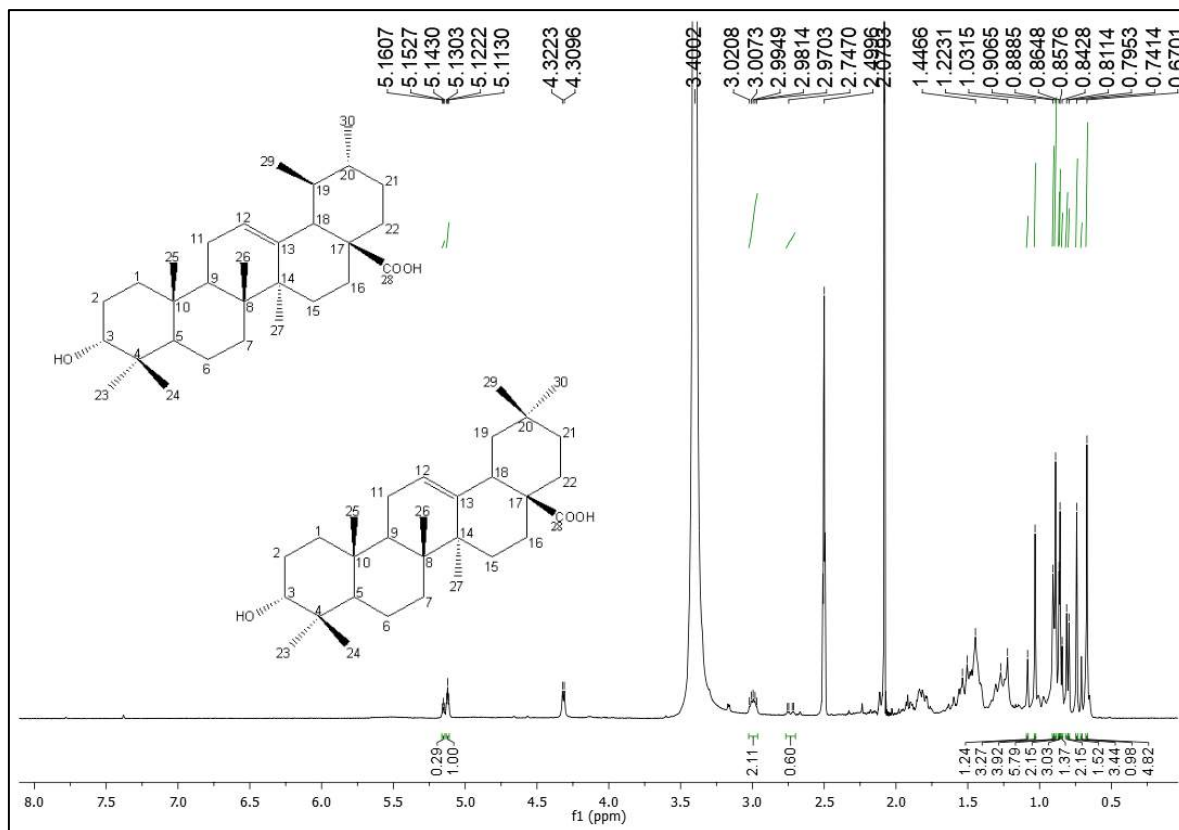


Figura 34. Expansão do espectro de RMN ^1H (δ , DMSO- d_6 , 400 MHz) de *He-5* na região entre 4,75 e 5,35 ppm.

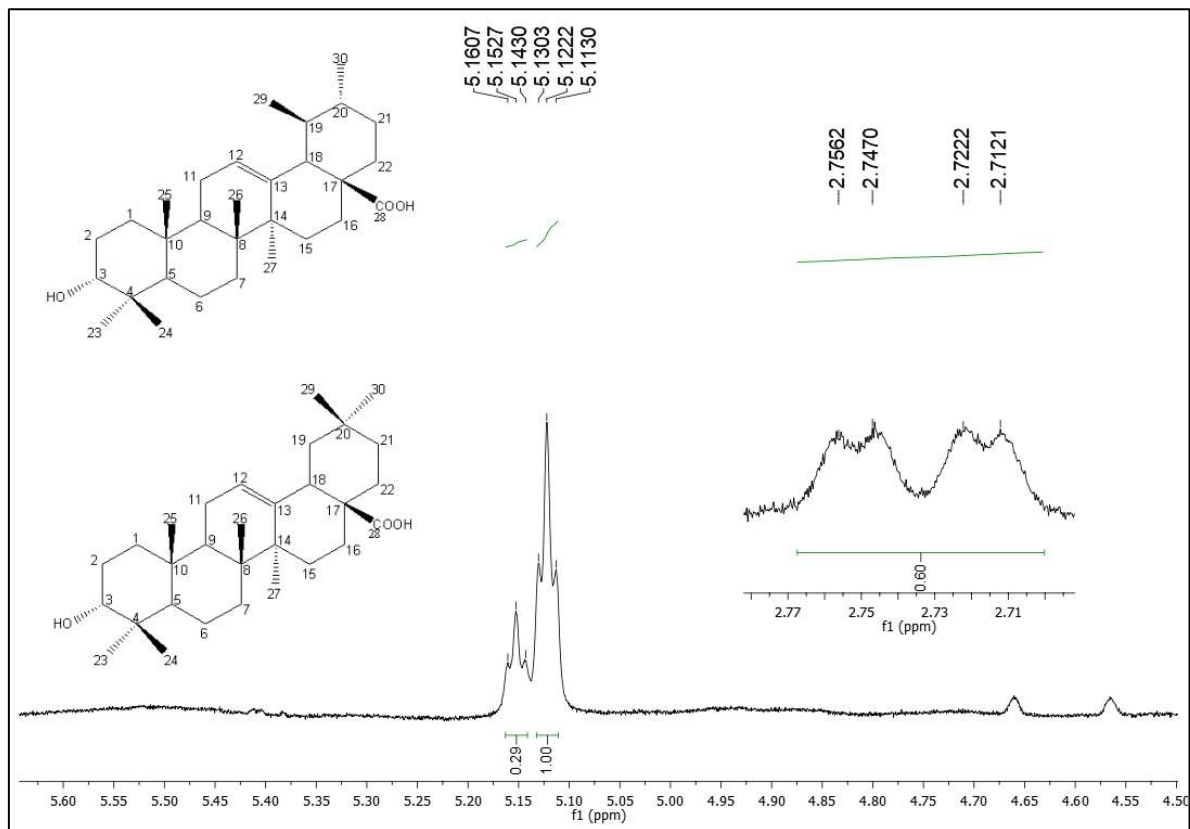


Figura 35. Espectro de RMN ^{13}C -APT (δ , DMSO- d_6 , 100 MHz) de *He-5*.

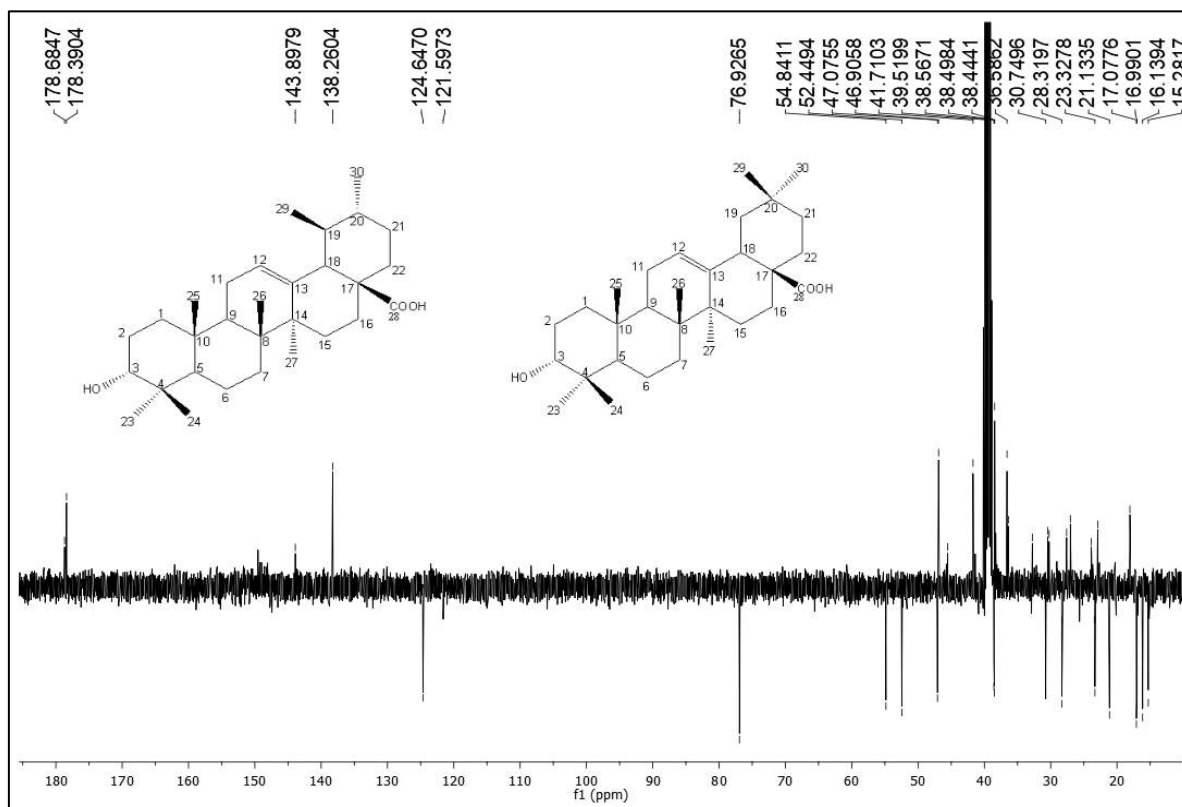


Figura 36. Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT (δ , DMSO- d_6 , 100 MHz) de *He-5* na região entre 116,0 e 166,0 ppm.

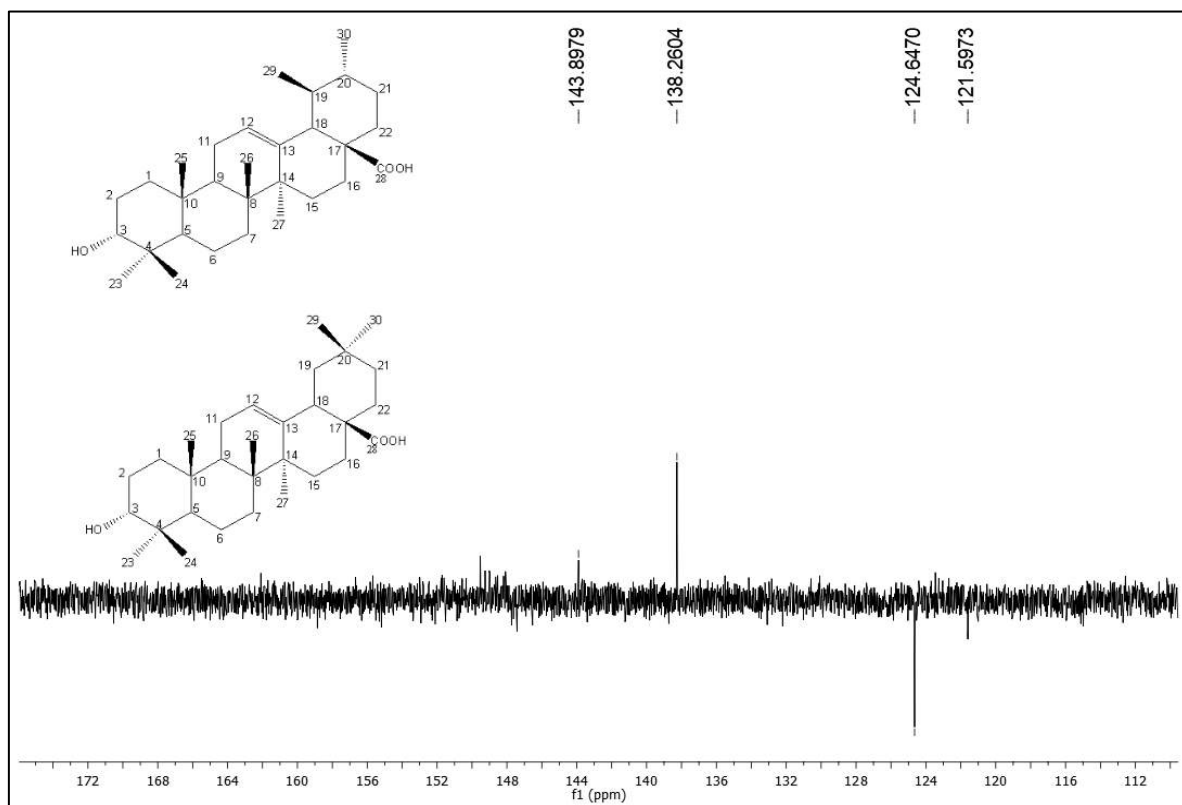
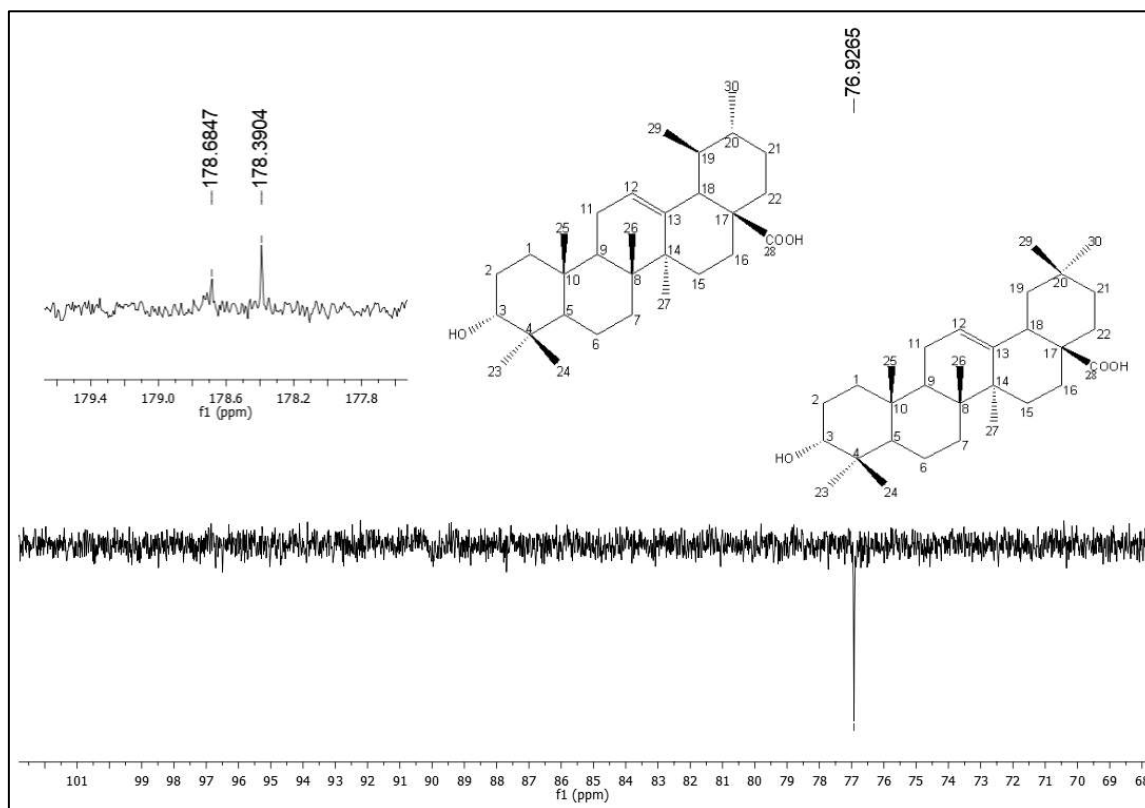


Figura 37. Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT (δ , DMSO- d_6 , 100 MHz) de *He-5* na região entre 68,0 e 101,0 ppm.



5.2.6 Caracterização estrutural de *He-6*

A substância codificada como *He-6* apresentou-se na forma de pó branco amorfo.

O espectro de RMN de ^1H (Figura 38, p. 92) exibiu um conjunto de sinais de alta multiplicidade entre δ_{H} 0,90 e 2,33, característico de substâncias pertencentes a classe dos triterpenos, como apresentado em *He-5*. A expansão desse espectro (Figura 39, p. 92) mostrou várias absorções entre δ_{H} 0,90 a 1,30, que foram relacionadas a grupamentos metila, típicos a essa classe de substâncias (SILVERSTEIN et al., 2007).

Esse espectro revelou a presença de um multipeto em δ_{H} 5,51 compatível com deslocamento químico de hidrogênio olefínico na posição H-12 e um sinal em δ_{H} 3,48 (m), referindo-se a hidrogênio metínico na posição H-3, corroborando com a proposta sugerida (Figura 40, p. 93) (KAWEETRIPOB et al., 2013).

Um duplete em δ_{H} 2,66 ($J = 11.8$ Hz) e outro com menor intensidade em δ_{H} 2,78 ($J = 12.0$ Hz), indicaram a presença de dois hidrogênios metínicos, ambos com constante de acoplamento referente a sistema axial-axial correspondente a hidrogênio na posição H-19, com

possível presença de um grupo metila na posição 19, indicando a possibilidade de *He-6* tratar-se de uma mistura de substâncias terpenoídicas (Figura 41, p. 93) (BATISTA, 2018).

Observou-se também, dois simpletos largos em δ_H 4,79 e 4,84 (Figura 42, p. 94) com integral para um hidrogênio cada, típico de grupo metileno sp^2 , e um sinal para hidrogênios metílicos em δ_H 0,98 (d, $J = 6.2$ Hz) (MAHATO & KUNDU, 1994).

O espectro de RMN de ^{13}C utilizando a técnica APT revelou a presença de 50 sinais (Figura 43, p. 94), correspondentes a presença de treze átomos de carbono metílicos, dezenove metilênicos, treze metínicos e quinze carbonos não hidrogenados, corroborando com a proposta de uma mistura de triterpenos.

A presença de dupla ligação entre os carbonos C-12 e C13 em δ_C 126,8 e 139,7, respectivamente, um sinal em δ_C 154,2 para carbono não hidrogenado C-20 e um carbono metilênico C-30 em δ_C 105,6 (Figura 44, p. 95), indicativo de dupla ligação terminal, juntamente com os sinais em δ_C 56,1 (C-18) característico de carbono metínico e absorções referentes a carbonos metilênicos em δ_C 33,2 (C-21) e 40,4 (C-22), permitem inferir a presença de uma substância com núcleo triterpenico da série ursano, apresentando duas ligações duplas conforme sugerido no espectro de RMN de 1H (ALTINIER et al., 2007).

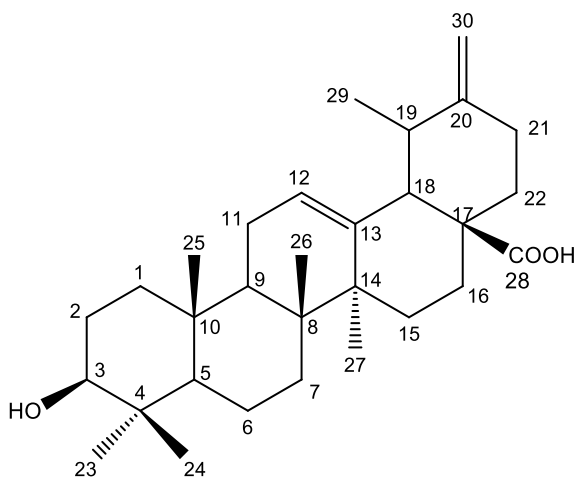
Os sinais em δ_C 180,4 e 179,8, característicos de grupo carbonila de ácido, adicionalmente com um sinal intenso em δ_C 78,6, referente a carbono oximetínico, sugeriram uma mistura de dois triterpenos ácidos com padrão de substituição na posição C-3 por uma hidroxila (Figura 45, p. 95) (LUO et al., 2015).

Ainda no espectro de RMN de ^{13}C foram evidenciados sinais menos intensos (Tabela 7, p. 89 a 90), tais como: δ_C 124,3 (C-12) referente ao carbono metínico e em δ_C 139,4 (C-13) para carbono não hidrogenado, bem como, deslocamentos químicos em δ_C 54,0 (C-18), 39,9 (C-20), 31,5 (C-21), 37,7 (C-22) e 21,9 (C-30), característicos de triterpeno da série ursano (ABREU et al., 2010).

Após análise dos espectros de RMN 1H e ^{13}C unidimensionais, além da comparação com modelos da literatura (Tabelas 7 e 8, p. 89 a 91), permitiram identificar *He-6* como sendo a mistura dos triterpenos ácidos 3- β -hidróxi-12,20(30)-dien-28-óico (*He-6a*) e o 3- β -hidróxi-urs-12-en-28-óico (*He-6b*), conhecidos como ácido micromérico e ácido ursólico, respectivamente.

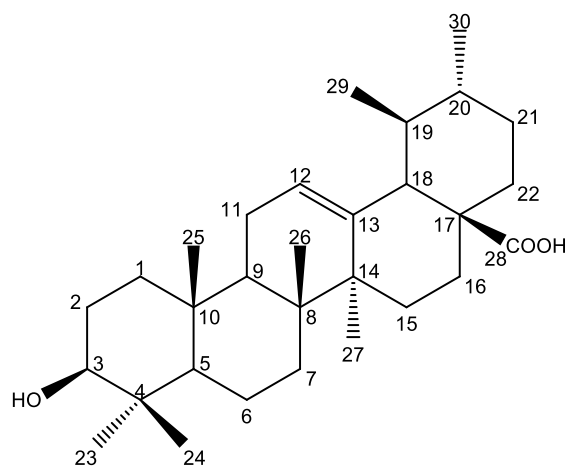
O ácido micromérico é relatado pela primeira vez no gênero *Helicteres*. Esse triterpenóide possui propriedades biológicas anti-inflamatórias tópicas e antinociceptiva, anulando ou reduzindo a percepção e transmissão de estímulos que causam dor e inflamação (ALTINIER et al., 2007; COSTA, 2003; MARTÍNEZ; 2012).

Estudos realizados anteriormente relatam atividade antioxidante, despigmentante, antimicrobiana e anti-inflamatória para o ácido ursólico (COLOMBO *et al.*, 2018). Esta substância foi isolada a partir da espécie vegetal *Helicteres angustifolia* (LIU & WANG, 1985) e relatada pela primeira vez na espécie *Helicteres eichleri*.



He-6a

Ácido 3- β -hidróxi-12,20(30)-dien-28-óico
(Ácido micromérico)



He-6b

Ácido 3- β -hidróxi-urs-12-en-28-óico
(Ácido ursólico)

Tabela 7. Dados comparativos de RMN ^1H e ^{13}C das substâncias *He-6a* e *He-6b* (δ , $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 400 e 100 MHz) com os modelos da literatura Mo-1 (δ , CD_3OD , 600 e 150 MHz) (ALTINIER et al., 2007) e Mo-2 (δ , $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 300 e 75 MHz) (UDDIN et al., 2011).

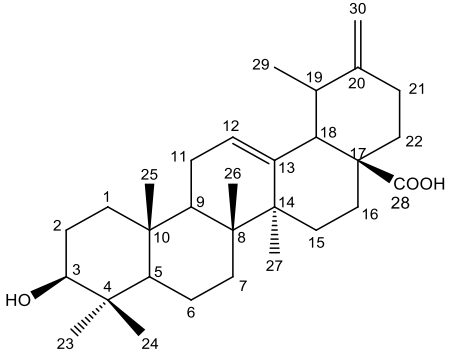
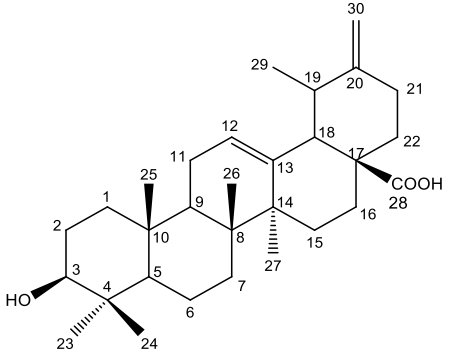
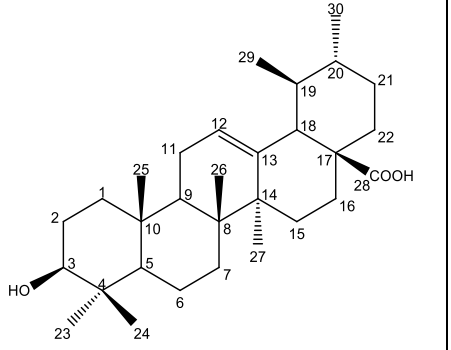
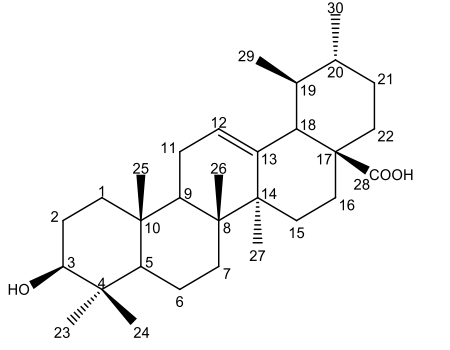
Mo-1 (Ácido micromérico)			<i>He-6a</i>		Mo-2 (Ácido ursólico)		<i>He-6b</i>	
								
C	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
1	1,66 (m)	39,9	-	39,8	-	38,4	-	39,8
2	1,03 (m)	28,5	-	28,6	-	28,1	-	28,6
3	3,25(dd, $J=11.1,4.0\text{Hz}$)	80,3	3,48 (m)	78,6	3,43 (m)	78,1	3,48 (m)	78,6
4	-	39,9	-	39,6	-	38,4	-	39,6
5	0,74 (m)	56,7	-	56,3	-	55,8	-	54,0
6	0,95 (m)	18,3	-	19,2	-	18,8	-	19,2
7	1,52 (m)	34,2	-	34,0	-	33,6	-	31,5
8	1,36 (m)	40,7	-	40,1	-	40,0	-	40,4
9	1,55 (m)	48,8	-	48,5	-	48,3	-	48,5
10	-	38,2	-	37,7	-	37,4	-	37,9
11	1,96	24,6	-	24,1	-	23,6	-	24,1
12	5,34 (t, $J=3.5\text{ Hz}$)	127,7	5,51 (m)	126,1	5,50 (m)	125,6	5,51 (m)	124,3
13	-	138,0	-	139,7	-	139,7	-	139,4
14	-	43,3	-	43,0	-	42,5	-	43,0
15	1,90-1,19 (m)	29,1	-	29,2	-	28,7	-	29,1
16	-	25,6	-	25,4	-	24,9	-	23,3

Tabela 7 (continuação). Dados comparativos de RMN ^1H e ^{13}C das substâncias *He-6a* e *He-6b* (δ , $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 400 e 100 MHz) com os modelos da literatura Mo-1 (δ , CD_3OD , 600 e 150 MHz) (ALTINIER et al., 2007) e Mo-2 (δ , $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 300 e 75 MHz) (UDDIN et al., 2011).

Mo-1 (Ácido micromérico)			<i>He-6a</i>		Mo-2 (Ácido ursólico)		<i>He-6b</i>	
C	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
17	-	48,0	-	48,5	-	48,0	-	48,7
18	2,31 (sl)	56,1	2,33 (s)	56,1	2,52 (d, $J=11$ Hz)	53,5	-	54,0
19	2,39(d, $J=11.0$ Hz)	38,7	2,66 (d, $J=11.8$ Hz)	38,2	-	39,5	2,78 (d, $J=12$ Hz)	38,2
20	-	152,8	-	154,2	-	39,1	-	39,9
21	2,25-2,31 (m)	33,5	-	33,2	-	31,1	-	31,5
22	1,92-1,73 (m)	40,1	-	40,4	-	37,3	-	37,7
23	1,00 (s)	29,4	-	29,3	1,24 (s)	28,8	-	29,3
24	0,79 (s)	16,9	-	17,1	1,02 (s)	15,7	-	16,1
25	0,94(s)	16,6	-	16,1	0,93 (s)	16,6	-	17,1
26	0,78 (s)	18,3	-	18,0	1,05 (s)	17,4	-	18,0
27	1,16 (s)	24,6	-	24,4	1,22 (s)	23,8	-	24,4
28	-	177,8	-	180,4	-	180,3	-	179,8
29	1,03 (d, $J=6.2$ Hz)	17,3	0,98 (d, $J=6,2$ Hz, 3H)	17,9	0,97 (s)	17,5	-	17,9
30a	4,65 (sl)	106,5	4,79 (s)	105,6	0,99 (d, $J=6.1$ Hz)	21,4	-	21,9
30b	4,70 (sl)		4,84 (s)					

Tabela 8. Dados comparativos de RMN de ^{13}C de *He-6* (δ , $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 100 MHz) com os modelos da literatura Mo-1 (δ , CD_3OD , 600 e 150 MHz) (ALTINIER et al., 2007) e (δ , $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 300 e 75 MHz) (UDDIN et al., 2011).

C	Mo-1 (ácido micromérico)	Mo-2 (ácido ursólico)	<i>He-6a</i>	<i>He-6b</i>
	δ_{C}	δ_{C}	δ_{C}	δ_{C}
1	39,9	38,7	39,8	39,8
2	28,5	27,4	28,6	28,6
3	80,3	77,3	78,6	78,6
4	39,9	38,8	39,6	39,6
5	56,7	55,2	56,3	54,0
6	18,3	18,4	19,2	19,2
7	34,2	33,1	34,0	31,5
8	40,7	39,5	40,1	40,4
9	48,8	47,5	48,5	48,5
10	38,2	36,9	37,7	37,9
11	24,6	23,3	24,1	24,1
12	127,7	125,0	126,1	124,3
13	138,0	138,6	139,7	139,4
14	43,3	42,1	43,0	43,0
15	29,1	28,0	29,2	29,1
16	25,6	24,4	25,4	23,3
17	48,0	47,2	48,5	48,7
18	56,1	52,8	56,1	54,0
19	38,7	38,9	38,2	38,2
20	152,8	38,9	154,2	39,9
21	33,5	30,1	33,2	31,5
22	40,1	36,7	40,4	37,7
23	29,4	15,7	29,3	16,1
24	16,9	28,7	17,1	29,3
25	16,6	16,5	16,1	17,1
26	18,3	17,4	18,0	18,0
27	24,6	23,7	24,4	24,4
28	177,8	178,7	180,4	179,8
29	17,3	17,3	17,9	17,9
30	106,5	21,5	105,6	21,9

Figura 38. Espectro de RMN ^1H (δ , $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 400 MHz) de *He-6*.

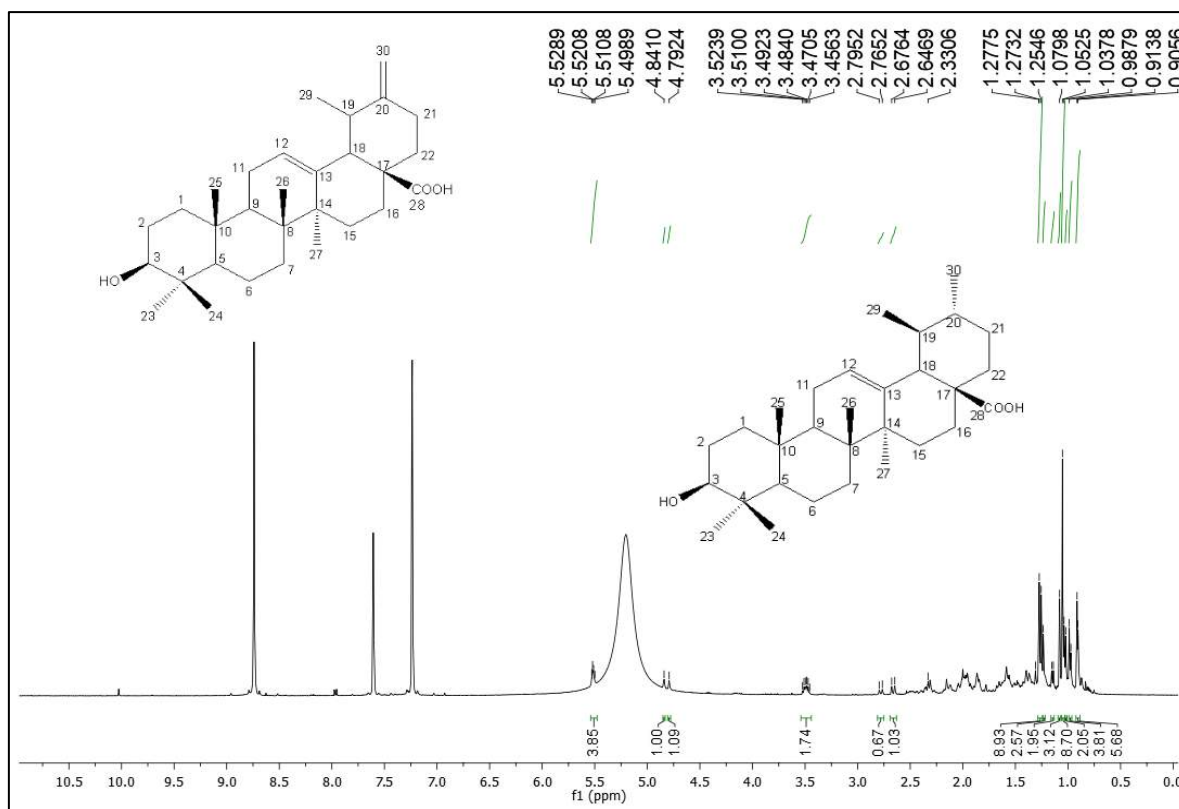


Figura 39. Expansão do espectro de RMN ^1H (δ , $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 400 MHz) de *He-6* na região entre 0,60 e 1,40 ppm.

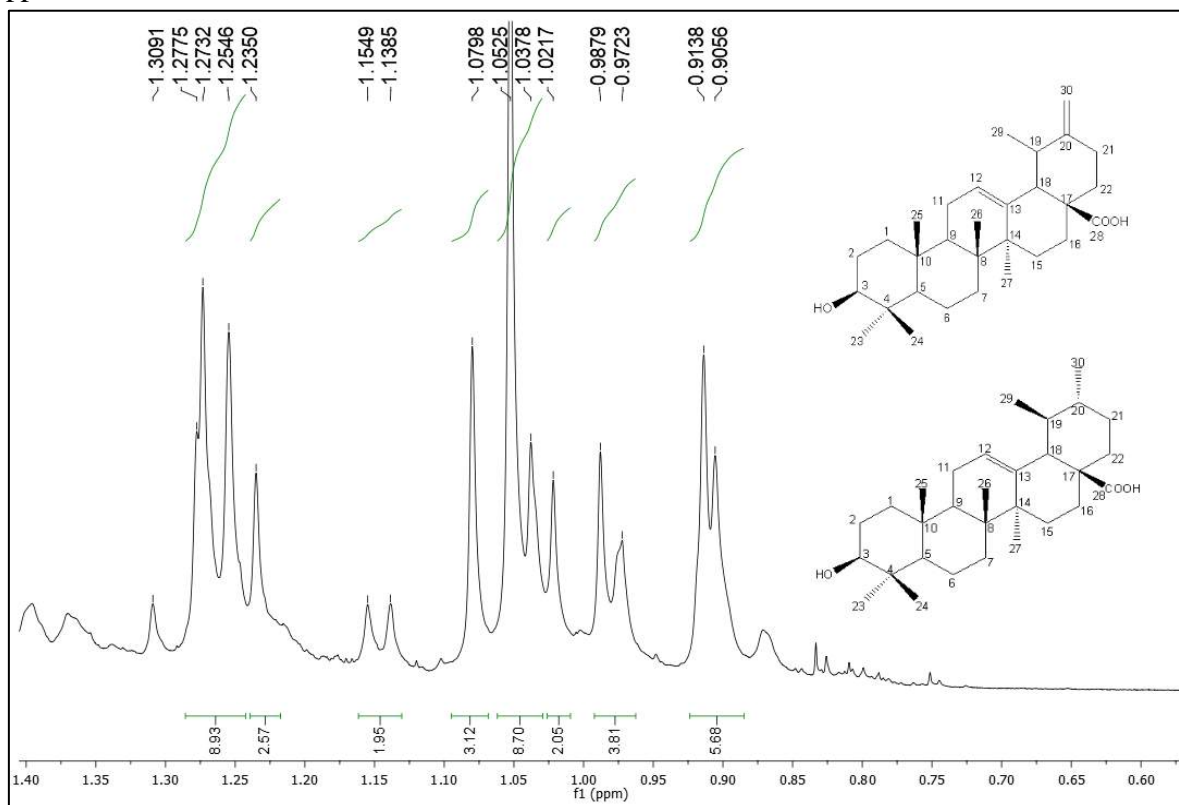


Figura 40. Expansão do espectro de RMN ^1H (δ , $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 400 MHz) de *He-6* na região entre 3,25 e 4,10 ppm.

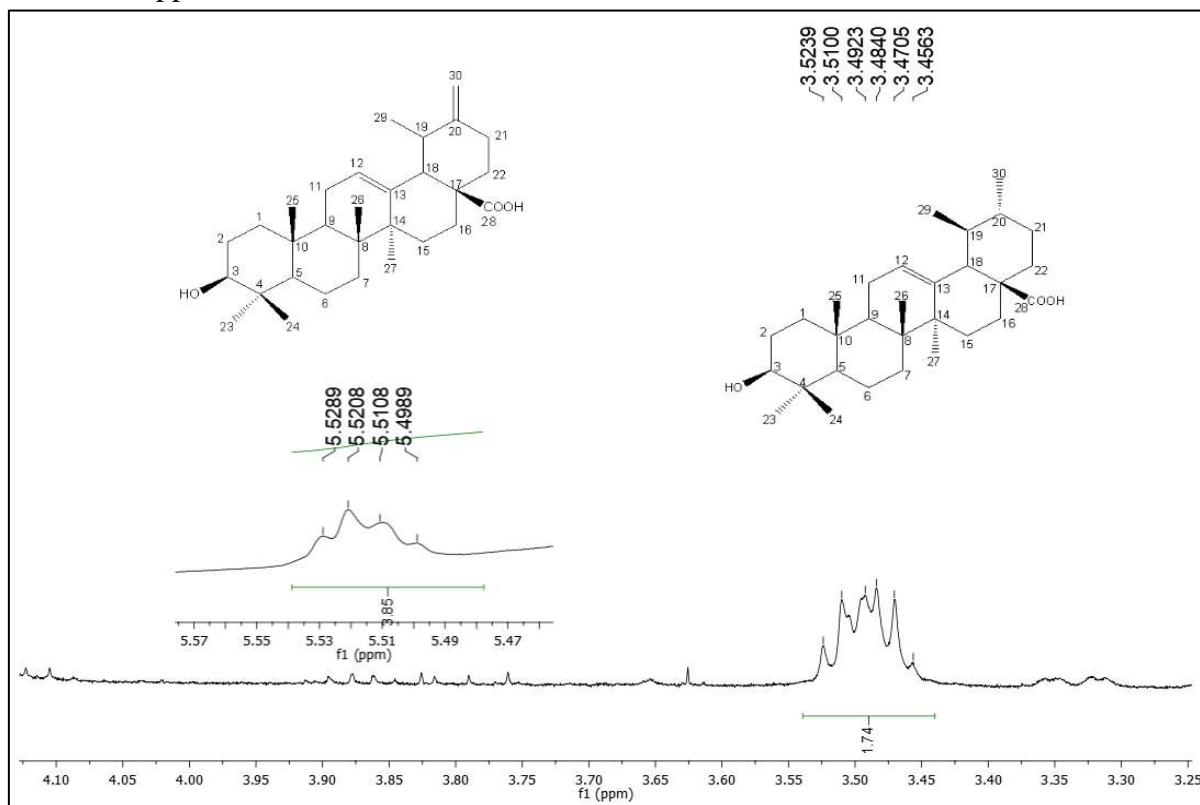


Figura 41. Expansão do espectro de RMN ^1H (δ , $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 400 MHz) de *He-6* na região entre 2,55 e 3,30 ppm.

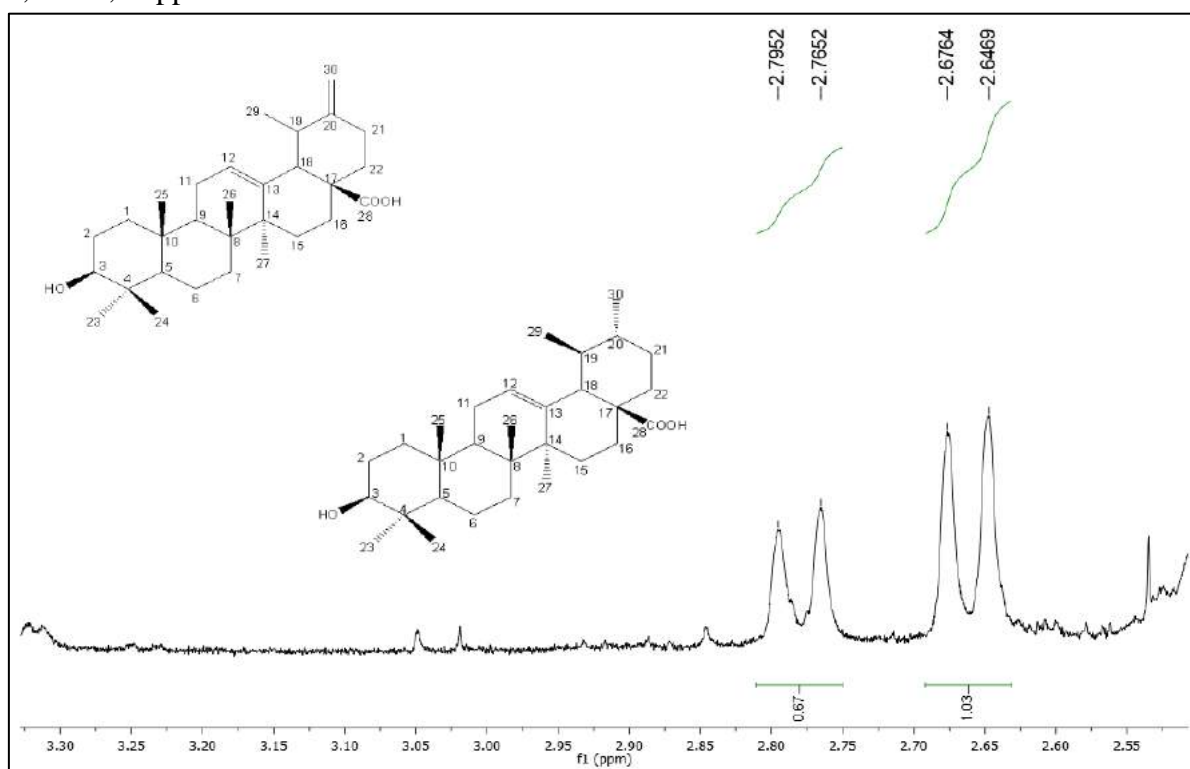


Figura 42. Expansão do espectro de RMN ^1H (δ , $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 400 MHz) de *He-6* na região entre 4,36 e 4,88 ppm.

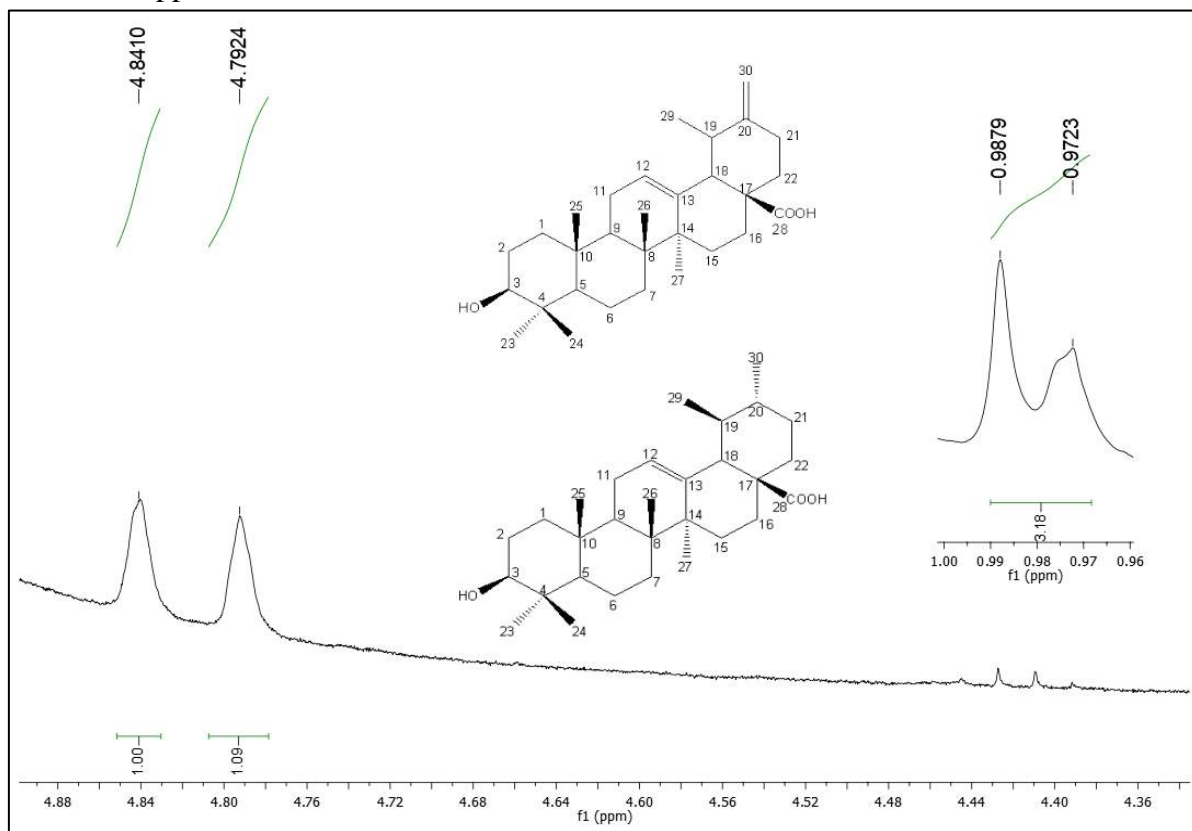


Figura 43. Espectro de RMN ^{13}C -APT (δ , $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 100 MHz) de *He-6*.

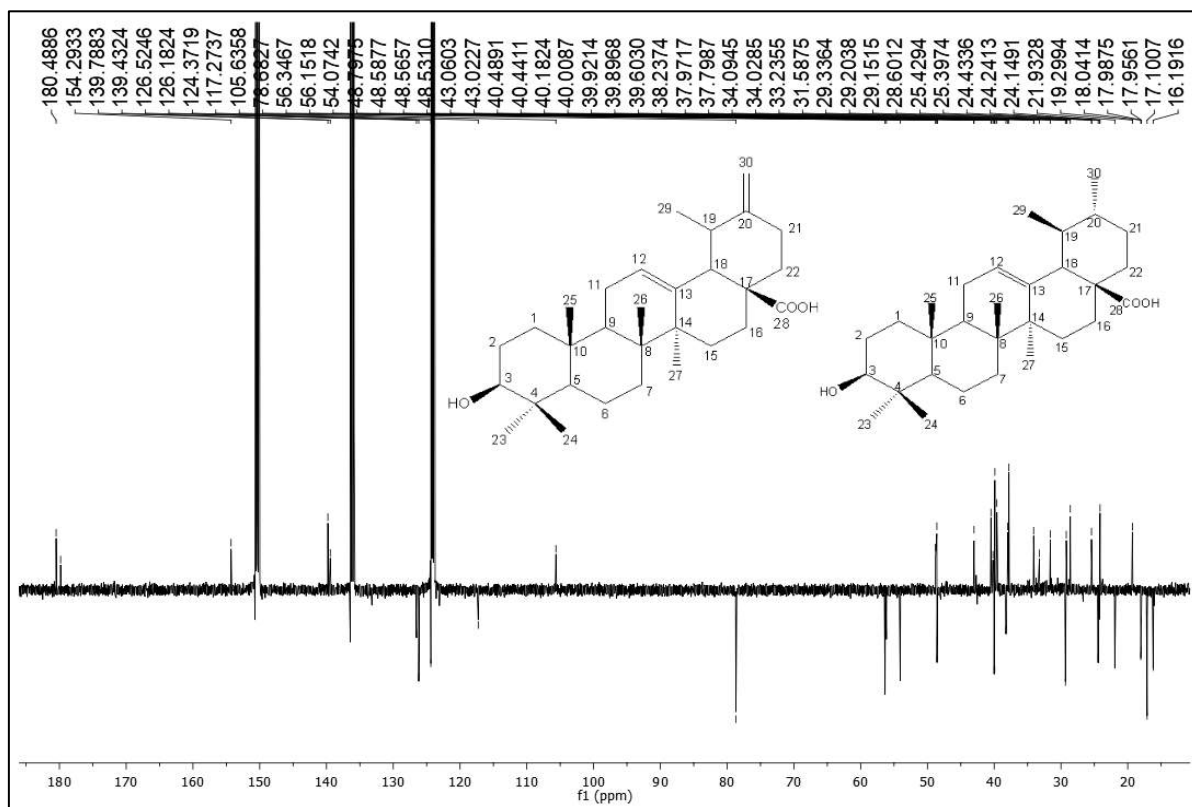


Figura 44. Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT (δ , $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 100 MHz) de *He-6* na região entre 120,0 e 156,0 ppm.

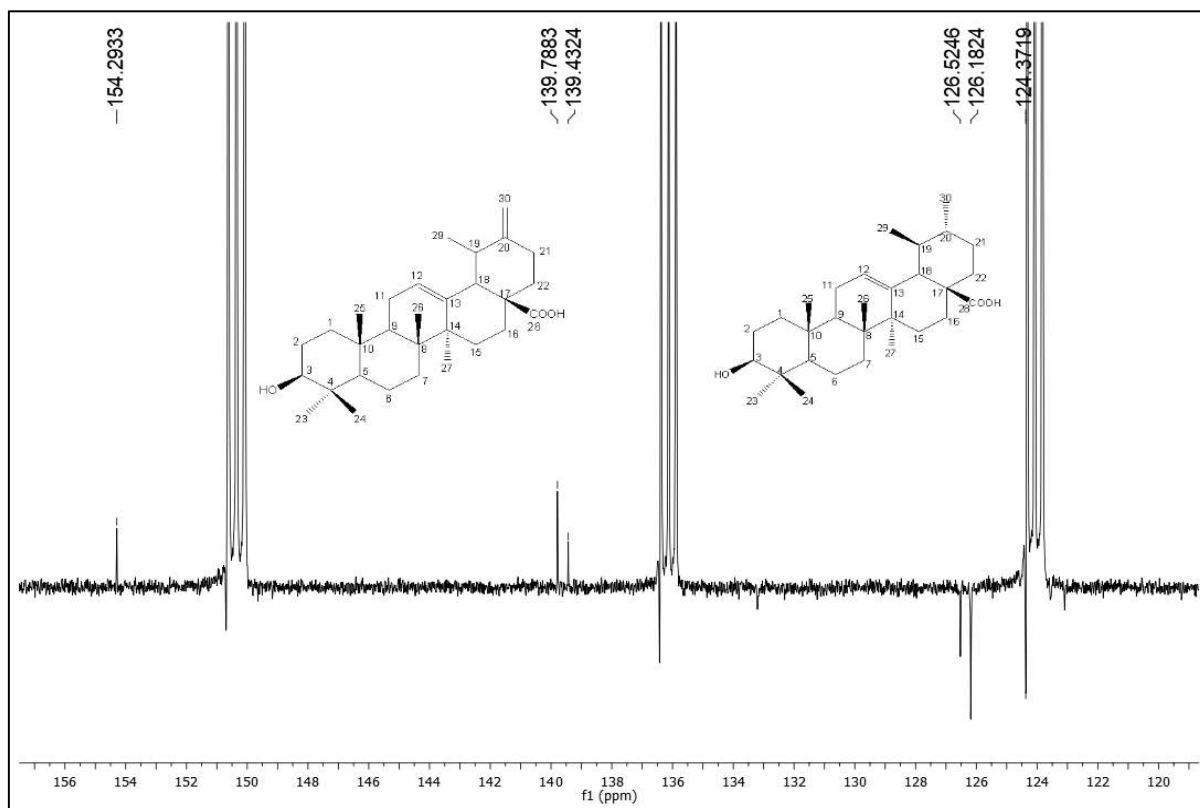


Figura 45. Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT (δ , $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 100 MHz) de *He-6* na região entre 164,0 e 183,0 ppm.

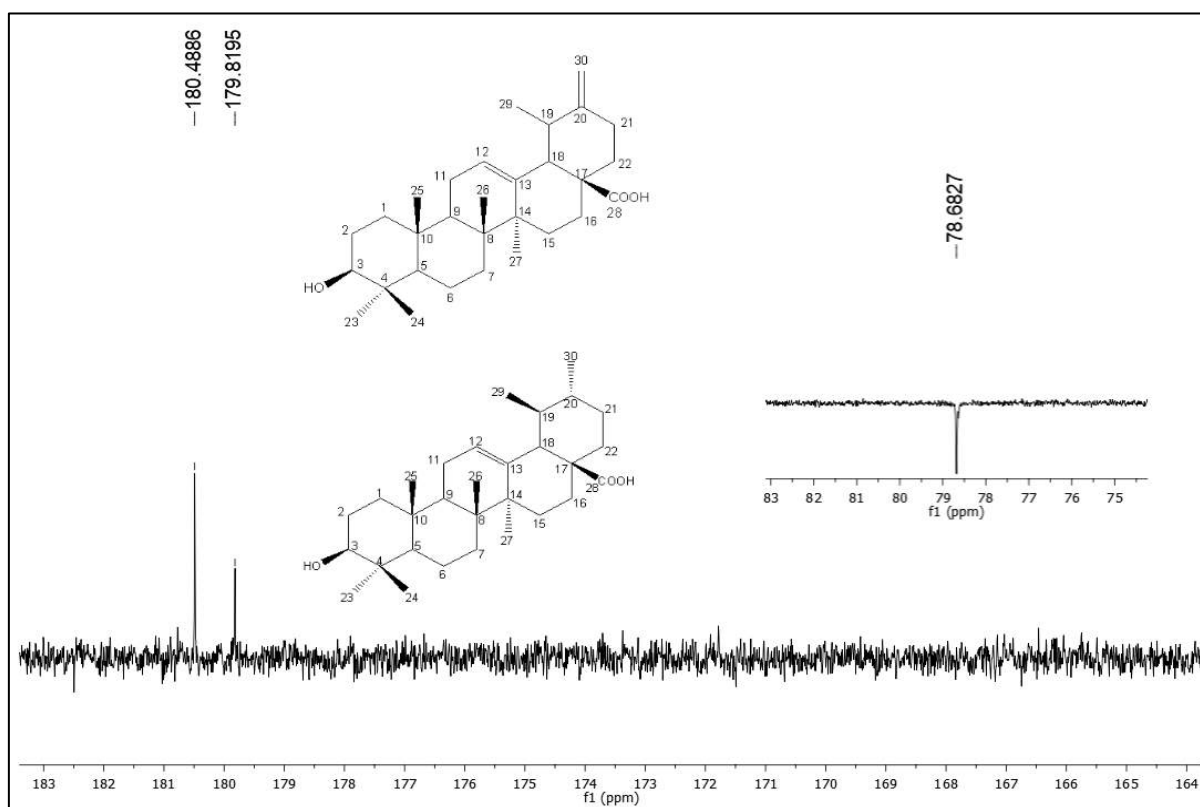
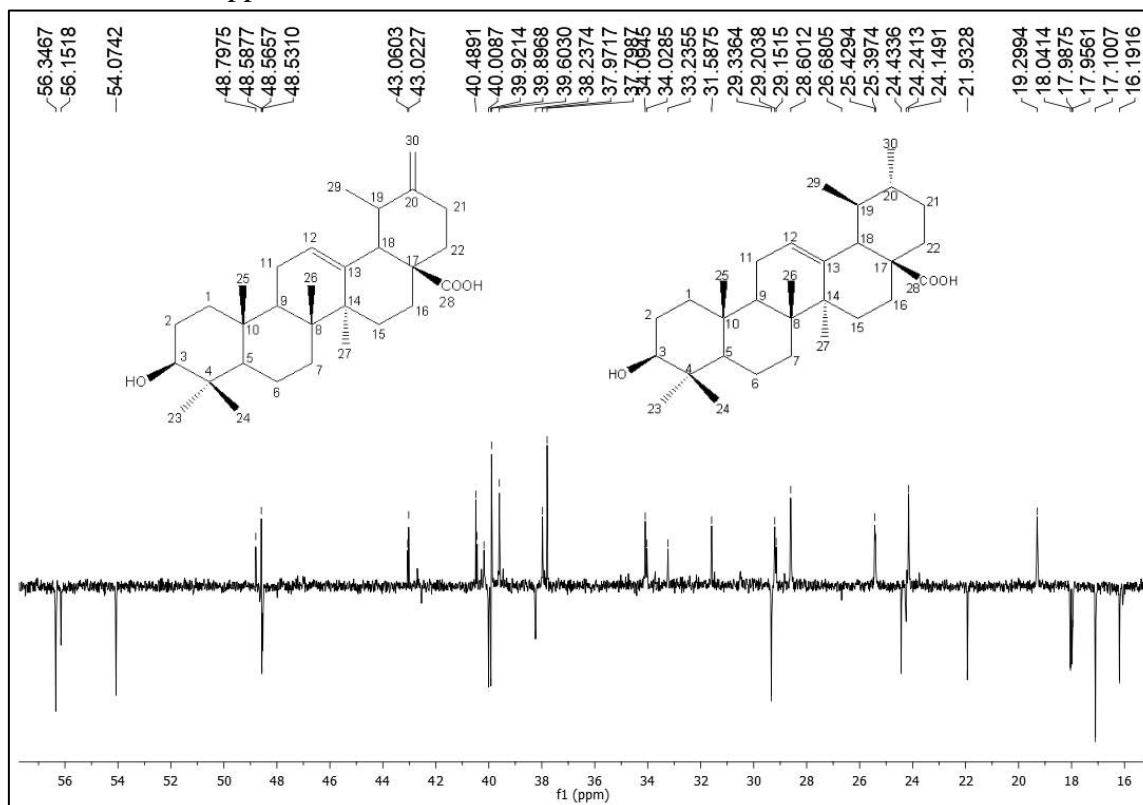


Figura 46. Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT (δ , $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 100 MHz) de *He-6* na região entre 16,0 e 56,0 ppm.



5.2. Abordagem sobre a atividade do EEB de *Helicteres eichleri* frente a larvas L4 de *Aedes aegypti*

Diversos extratos de espécies vegetais têm demonstrado efeitos sobre *Ae. Aegypti*, como repelência, inibição de oviposição e de alimentação, alterações no desenvolvimento e morte (KRINSKI et al., 2014). O controle natural de vetores com o uso de produtos naturais é menos impactante em relação aos inseticidas sintéticos, pois esses produtos apresentam uma degradação mais rápida, resultando em menor exposição ocupacional e poluição do meio ambiente (BUSATO et al., 2015).

Nesse contexto, as larvas no quarto estágio de *Ae. aegypti* submetidas a diferentes concentrações do EEB das partes aéreas de *Helicteres eichleri*, sofreram alterações morfológicas e motoras, nos intervalos de 24 e 48 horas de exposição. Durante os experimentos foi possível observar que todas as larvas do grupo controle negativo permaneceram vivas, enquanto que no controle positivo houve mortalidade total das larvas expostas, como observado em trabalhos realizados por Fernandes et al. (2018) com a espécie *Helicteres velutina* (Malvaceae) e por Guarda et al. (2016) com as espécies *Eugenia uniflora* (Myrtaceae), *Solidago*

chilensis (Asteraceae), *Heteropterys aphrodisiaca* (Malpighiaceae) e *Casearia sylvestris* (Salicaceae).

No grupo tratamento, os movimentos das larvas passaram de normal agitado para vagaroso, resultando em larvas imóveis, para esse estudo só foram consideradas mortas as larvas que não respondessem a estímulos mecânicos e que apresentassem paralização total de seus movimentos, como observado em estudo realizado por Santos et al. (2015). Com o passar do tempo, alterações na coloração e no tamanho normal das larvas foram características evidenciadas. Algumas larvas apresentaram encurtamento dos segmentos corporais e outras alongamento dos mesmos. Após morrerem, as larvas apresentaram mudança de coloração para mais enegrecida, principalmente no intervalo de tempo de 48 horas, resultado este semelhante ao encontrado para a espécie *Piper aduncum* (Piperaceae) (OLIVEIRA et al., 2013).

De acordo com Quirino (2010), alterações morfológicas e comportamentais em larvas submetidas a tratamentos com EEB de plantas são comuns, estas modificações podem direcionar ao modo de ação das substâncias no corpo das larvas, servindo de embasamento para estudos que possam desenvolver inseticidas eficazes e que ao mesmo tempo não interfiram em outros organismos ou ambientes a qual estão sendo expostos.

No intervalo de 24 horas de exposição, foi possível observar que a concentração de 20mg/mL apresentou mortalidade de 92,5% das larvas expostas, entretanto as concentrações 1,5, 2,5, 5,0 e 10,0 mg/mL causaram a morte de 1,6%, 15,0%, 51,6% e 65,0% das larvas, respectivamente (Tabelas 9, p. 98; Figura 47, p. 99). Segundo a ANOVA seguida do pós-teste de Tukey, a concentração de 20 mg/mL mostrou-se estatisticamente igual ao controle positivo, em nível de 5% de probabilidade. Estes resultados, corroboram com os encontrados nos estudos realizados com *Dalbergia brasiliensis* (Fabaceae) e *Croton linearifolius* (Euphorbiaceae), onde foi possível observar similaridade entre as concentrações e ações dos extratos testados, apresentando percentual de mortalidade proporcional com o aumento da concentração dos extratos avaliados (SILVA et al., 2014; DARMALI et al., 2015).

Na avaliação das larvas após um período de 48 horas, observou-se que a eficácia do EEB persistiu, sendo registrada uma taxa de mortalidade de 1,6%, 31%, 80% e 90%, para as concentrações de 1,25, 2,5, 5,0 e 10,0 mg/mL, respectivamente (Tabela 9, p. 98). O percentual larvicida atingiu 93,3% na dose de 20mg/mL, a qual foi significativamente mais efetiva em relação às outras concentrações. Como observado na Tabela 9, apesar de não apresentar diferenças significativas quando comparado ao intervalo de 24 horas, foi possível detectar uma atividade larvicida maior.

Pesquisa realizada por Magalhães (2015), com o extrato da espécie *Anacardium occidentale* (Anacardiaceae) após o período de 48 horas, demonstrou que a mortalidade das larvas, além da influência da concentração, foi influenciada pelo tempo que estas permaneceram expostas ao extrato, como observado nesse estudo.

Tabela 9. Avaliação da mortalidade (%) de larvas no quarto estágio do *Aedes aegypti* frente a diferentes concentrações do EEB das partes aéreas de *H. eichleri*.

Concentração (mg/mL)	Mortalidade (%) 24 h	Resultado avaliado	Mortalidade (%) 48 h	Resultado avaliado
1,25	1,6	Inativo	1,6	Inativo
2,5	15,0	Inativo	31,0	Fracamente promissor
5,0	51,6	Parcialmente promissor	80,0	Promissor
10,0	65,0	Parcialmente promissor	90,0	Promissor
20,0	92,5	Promissor	93,3	Promissor

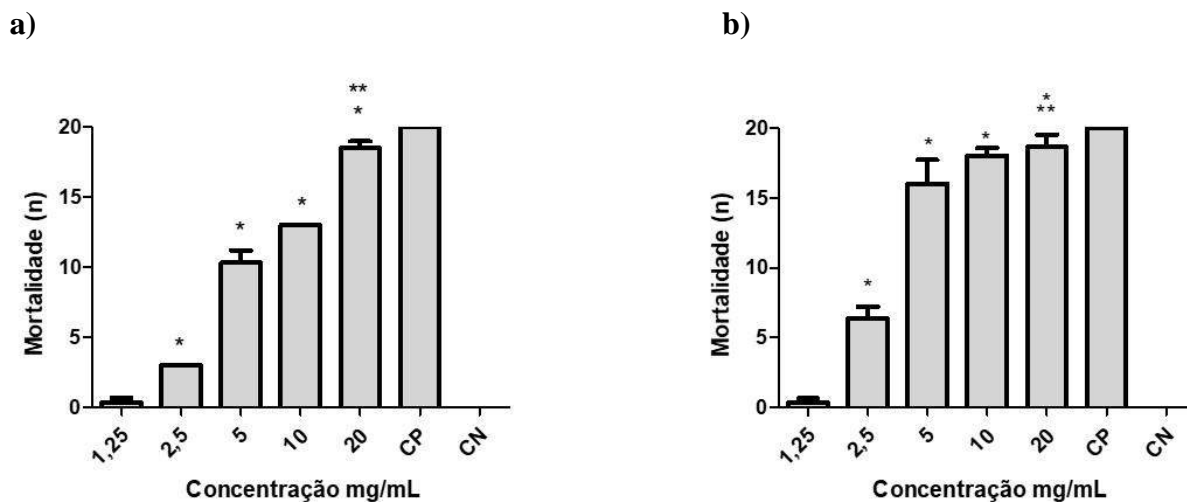
Com base nos resultados obtidos após 24 horas, a CL₅₀ foi calculada em 4,40 mg/mL, no entanto, os valores de concentração letal diminuíram após 48 horas de exposição, apresentando CL₅₀ de 3,73 mg/mL (Figura 47, p. 99).

A concentração obtida apresentou maior propriedade inseticida em relação a pesquisas que avaliaram a atividade larvicida de extratos após 24 horas das espécies *Croton linearifolius* (Euphorbiaceae) (CL₅₀: 17,42 mg/mL) e *Azadirachta indica* (Meliaceae) (CL₅₀: 50,0 mg/mL) (NOUR, SANDANASAMY, NOUR, 2012; SILVA et al., 2014).

Em comparação com a concentração média letal de *Piper alatabaccum* (Piperaceae) (CL₅₀: 0,86 mg/mL) após 24 horas de análise e da espécie *Anacardium occidentale* (Anacardiaceae) (CL₅₀: 0,00086 mg/mL) no intervalo de 48 horas, o resultado obtido apresentou maior concentração para matar metade das larvas expostas (SANTANA, 2012; MAGALHÃES, 2015).

Pesquisa realizada com a espécie *Helicteres velutina* (Sterculiaceae) apresentou CL₅₀ de 2,98mg/mL após exposição de 24 horas ao seu EEB, demonstrando que espécies do gênero *Helicteres* possuem promissor potencial inseticida contra *Ae. aegypti* (FERNANDES et al., 2018).

Figura 47. Atividade larvica das diferentes concentrações do EEB de *H. eichleri* sobre *Ae. aegypti*, após 24 (a) e 48 (b) horas de exposição.



CN: Controle Negativo; **CP:** Controle Positivo. (*) Estatisticamente diferente do CN (**) Estatisticamente igual do CP. ($p \leq 0,05$)

O EEB de *H. eichleri* possui potencial larvica sobre o quarto estágio larval do ciclo de vida do *Ae. Aegypti*. Entretanto, é necessário dar continuidade ao estudo como o objetivo de analisar a possibilidade de ação sinérgica positiva entre as substâncias presentes na matriz vegetal e realizar testes com as substâncias isoladas, no intuito de desenvolver inseticidas naturais que visem o controle integrado de combate ao vetor de forma sustentável.

6 CONCLUSÕES

O estudo fitoquímico da fase hexânica e *n*-butanólica de *Helicteres eichleri* K. Schum, através de métodos espectroscópicos de RMN ^1H e ^{13}C uni e bidimensionais e comparação com dados da literatura, permitiram isolar e caracterizar as seguintes estruturas: decanol (*He-1*), ácido rosmarínico (*He-2*), uma mistura do β -sitosterol e estigmasterol (*He-3a e He-3b*), lupeol (*He-4*), uma mistura dos ácidos 3- α -hidróxi-urs-12-en-28-óico e 3- α -hidroxi-olean-12-en-28-óico (*He-5a e He-5b*) e uma mistura dos ácidos micromérico e ursólico (*He-6a e He-6b*).

Uma abordagem preliminar, a partir da exposição das larvas no estágio L4 de *Aedes aegypti* a diferentes concentrações do extrato etanólico bruto das partes aéreas de *Helicteres eichleri*, demonstrou promissora atividade larvicida. Após 24 e 48 horas de exposição, a concentração de 20mg/mL foi capaz de matar 92,5% e 93,3% das larvas, respectivamente. A CL_{50} foi calculada em 4,4 mg/mL para o intervalo de 24 horas, e após 48 horas de exposição apresentou CL_{50} de 3,73 mg/mL.

Este trabalho fornece importantes conhecimentos sobre a espécie estudada, despertando o interesse para estudos em outras áreas. O isolamento dessas substâncias contribui para o enriquecimento quimiotaxonômico da família Malvaceae e melhor conhecimento de uma espécie pertencente à vegetação brasileira.

REFERÊNCIAS

ABEDINI, A.; ROUMY, V.; MAHIEUX, S.; BIABIANY, M.; STANDAERT-VITSE, A.; RIVIERE, C.; SAHPAZ, S.; BAILLEUL, F.; NEUT, C.; HENNEBELLE, T. Rosmarinic acid and its methyl ester as antimicrobial components of the hydromethanolic extract of *Hyptis atrorubens* Poit. (Lamiaceae). **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2013, p. 1–11, 2013.

ABREU, V.G.C.; SILVA, M.C.; MAGALHÃES, R.M.; PILÓ-VELOSO, D.; XAVIER, I.F.S.; OLIVEIRA, P.M.; ALCÂNTARA, A.F.C. Chemical constituents from the stem of *Brosimum potabile* (Moraceae). **Acta Amazonica**, v. 40, n. 4, 2010.

ALHASSAN, A.M.; AHMED, Q.U.; LATIP, J.; SHAH, S.A.A.; KHAN, A.'A.Y.F.; SARIAN, M.N.; WAHAB, R.A.; TAHER, M.; ABDULLAHI, M.I.; KHATIB, A. Phytoconstituents from *Vernonia glaberrima* Welw. Ex O. Hoffm. leaves and their cytotoxic activities on a panel of human cancer cell lines. **South African Journal of Botany**, v. 116, p. 16-24, 2018.

ALI, M.S.; AHMAD, V. U.; AZHAR, I.; USMANGHANI, K. Chemotropism and antimicrobial activity of *Tamarindus indica*. **Fitoterapia**, v. 69, n.1, p.4346, 1998.

ALMEIDA, L. Identificação de arbóreas da área de preservação permanente na cidade de Cáceres-MT. **História, Natureza e Espaço-Revista Eletrônica do Grupo de Pesquisa NIESBF**, v. 3, n. 1, 2015.

ALMEIDA, M. R.; MARTINEZ, S. T.; PINTO, A. C. Química de Produtos Naturais: Plantas que testemunham histórias. **Revista Virtual de Química**, v. 9, n. 3, p.1117-1153, 2017.

ALTINIER, G.; SOSA, S.; AQUINO, R. P.; MENCHERINI, T. Characterization of topical anti-inflammatory compounds in *Rosmarinus officinalis* L. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, p. 1718-1723, 2007.

ALVES, T. M. D.; NAGEM, T. J.; CARVALHO, L. H.; KRETTLI, A. U.; ZANI, C. L. Antiplasmodial triterpene from *Vernonia brasiliensis*. **Planta Médica**, v. 63, n.6, p.554-555, 1997.

ANTONIO, J.C.F.; SANTOS, L.S.; GUILHON, G.M.S.P.; ZOGHBI, M.G.B.; PORTS, P.S.; RODRIGUES, I.C.S. Triterpenoides, fenólicos e efeito fitotóxico das folhas de *Eugenia flavescens* DC (Myrtaceae). **Química Nova**, v. 40, n. 3, p. 252-259, 2017.

APG IV - Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 181: 1-20, 2016.

ARAUJO, J. L.; LEMOS, J. R. Estudo etnobotânico sobre plantas medicinais na comunidade de Curral Velho, Luís Correia, Piauí, Brasil. **Revista Biotemas**, v. 28, n. p. 2, 2015.

BATISTA, B.S. R. Isolamento de metabólitos secundários de *Mesosphaerum pectinatum* bioguiado por ensaios antimicrobianos frente a cepas de *Staphylococcus aureus*. 59 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) - Universidade Federal de Sergipe, Lagarto, 2018.

BENJUMEA, D. M.; GÓMEZ-BETANCUR, I. C.; VÁSQUEZ, J.; ALZATE, F.; GARCÍA-SILVA, A.; FONTENLA, J. A. Neuropharmacological effects of the ethanolic extract of *Sida acuta*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 26, n. 2, p. 209-215, 2016.

BERLINCK, R. G. S.; BORGES, W. S.; SCOTTI, M. T.; VIEIRA, P. C. The chemistry of natural products in Brazil in the XXI century. **Química Nova**, v. 40, n. 6, p. 706-710, 2017.

BERRONDO, L. F.; GABRIEL, F. T.; FERNANDES, S. B. O.; MENEZES, F. S.; MOREIRA, D. L. Dirhamnosyl flavonoid and other constituents from *Brillantaisia palisatii*. **Química Nova**, v. 26, n. 6, p. 922-923, 2003.

BOLZANI, V. S. Biodiversidade, bioprospecção e inovação no Brasil. **Ciência e Cultura**, v. 68, n. 1, p. 04-05, 2016.

BRASIL. ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Recomendações técnicas ao Sistema Nacional de Vigilância Sanitária para colaborar no combate ao Aedes aegypti e prevenção e controle da Dengue, Chikungunya e infecção pelo vírus Zika**. Brasília-DF, 2016a. Disponível em: <<http://novoportal.anvisa.gov.br>> Acessado em 21 de nov. de 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Boletim epidemiológico. **Monitoramento dos casos de dengue, febre de chikungunya e doença aguda pelo vírus Zika até a Semana epidemiológica 34, 2018**. v. 49, n. 40, 2018. Disponível em: <<http://portal.arquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2018/setembro/10/2018-045.pdf>> Acessado em 03 de set. de 2018.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Secretaria de Recursos Hídricos. **Entenda a importância das regiões hidrográficas do Brasil**. Brasília-DF, 2017.

BRITO FILHO, S. G. ; MACIEL, J. K. S. ; TELES, Y. C. F. ; FERNANDES, M. M. M. ; CHAVES, O. S. ; FERREIRA, M. D. L. ; FERNANDES, P. D. ; FELIX, L. P. ; CIRINO, I. C. S. ; SIQUEIRA JUNIOR, J. P. ; BRAZ-FILHO, R. ; SOUZA, M. F. V. Phytochemical study of *Pilosocereus pachycladus* and antibiotic-resistance modifying activity of syringaldehyde. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 27, p. 453-458, 2017.

BRITO FILHO, S.G.; FERNANDES, M.G.; CHAVES, O.S.; CHAVES, M.C.O.; ARARUNA, F.B.; EIRAS, C.; LEITE, J.R.S.A.; AGRA, M.F.; BRAZ-FILHO, R.; SOUZA, M.F.V. Chemical constituents isolated from *Turnera subulata* Sm. and electrochemical characterization of phaeophytin b. **Química Nova**, v. 37, n. 4, p. 603-609, 2014.

BUSATO, M.A.; VITORELLO, J.; LUTINSKI, J.A.; DAL MAGRO, J.; SCAPINELLO, J. Larvicidal potential of *Melia Azedarach* L. And *Ilex Paraguariensis* A. St.-Hil. in the control of *Aedes Aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae). **Ciência e Natura**, v. 37, n. 2, p. 277-282, 2015.

CABRAL, S.S. **Atividade larvicida do extrato bruto de *Swinglea glutinosa* evidenciada pelas alterações morfohistológicas em larvas de *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae)**. 87 f. Dissertação (Mestrado em Biologia da relação Parasito-Hospedeiro) – Universidade Federal de Goiás. Goiânia, 2015.

CASANOVA, L. M.; COSTA, S. S. Interações sinérgicas em produtos naturais: potencial terapêutico e desafios. **Revista Virtual de Química**, v. 9, n. 2, 2017.

CHAVES, O. S. **Estudo fitoquímico e antimicrobiano de duas espécies de Malvaceae: *Pavonia malacophylla* (Link & Otto) Garcke e *Sida rhombifolia* L.** 197 f. Tese (Doutorado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa-PB, 2016.

CHAVES, O.S.; GOMES, R.A.; TOMAZ, A.C.A., FERNANDES, M.G.; MENDES JUNIOR, L.G.; AGRA, M.F.; BRAGA, V.A.; SOUZA, M.F.V. Secondary Metabolites from *Sida rhombifolia* L. (Malvaceae) and the Vasorelaxant Activity of Cryptolepinone. **Molecules**, v. 18, n. 3, p. 2769-2777, 2013.

CHAVES, O.S.; TELES, Y.C.; MONTEIRO, M.M.O.; MENDES-JUNIOR, L.G.; AGRA, M.F.; BRAGA, V.A.; SILVA, T.M.S.; SOUZA, M.F.V. Alkaloids and Phenolic Compounds from *Sida rhombifolia* L. (Malvaceae) and Vasorelaxant Activity of Two Indoquinoline Alkaloids. **Molecules**, v. 22, n. 1, p. 94, 2017.

CHEN, C. M., CHEN, Z. T., HONG, Y. L. A mansonone from *Helicteres angustifolia*. **Phytochemistry**, v.29, n.980-982, 1990.

CHEN, Z.T., LEE, S.W., CHEN, C.M. Cucurbitacin B 2-sulfate and cucurbitacin glucosides from the root bark of *Helicteres angustifolia*. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v.54, p. 1605-1607, 2006.

CHEN, Z.T., LEE, S.W., CHEN, C.M. Cucurbitacin B 2-sulfate and cucurbitacin glucosides from the root bark of *Helicteres angustifolia*. **Chem. Pharm. Bull.**, v. 54, n. 1605-1607, 2006.

CHIN, Y.W., JONES, W.P., RACHMAN, I., RISWAN, S., KARDONO, L.B.S., CHAI, H.B., FARNSWORTH, N.R., CORDELL, G.A., SWANSON, S.M., CASSADY, J.M., KINGHORN, A.D. Cytotoxic lignans from the stems of *Helicteres hirsuta* collected in Indonesia. **Phytother. Res.**, v.20, n.62-65, 2006.

CIBELE, M.A.S. **Metabólitos secundários de plantas do semi-árido de Pernambuco – Uma inovação no controle de fitopatógenos.** 109 f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica e Fisiologia) – Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2013.

COLAÇO, M.A.S. **Etnobotânica dos índios Pankararé, no Raso da Catarina – Bahia: uso e importância cultural de plantas da caatinga.** 2006. Dissertação (Mestrado em Botânica) – Universidade Estadual de Feira de Santana - BA, 2006.

COLOMBO, F.C.; FERREIRA, I.F; SPAGNOL, C.M.; SALGADO, H.R.N.; ISAAC, V.L.B.; CORRÊA, M.A. Desenvolvimento de método analítico por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) para quantificação de ácido ursólico. **Journal of Basic and Applied Pharmaceutical Sciences**, v. 38, 2018.

COSTA, D.A.; CHAVES, M.H.; SILVA, W.C.S.; COSTA, C.L.S. Constituintes químicos, fenóis totais e atividade antioxidante de *Sterculia striata* St. Hil. Et Naudin. **Acta amazônica**, v. 40, n. 1, p. 207-212, 2010.

COSTA, D.A.; MATIAS, W.M.; LIMA, I.O.; XAVIER, A.L.; COSTA, V.B.M.; DINIZ, M.F.F.M.; AGRA, M.F.; BATISTA, L.M.; SOUZA, M.F.V.; SILVA, D.A. First secondary metabolites from *Herissantia crispa* L (Brizicky) and the toxicity activity against *Artemia salina* Leach. **Química Nova**, v.32, n.1, p. 48-50, 2009.

COSTA, V. B.; COUBE, C. S.; MARINHO, B. G.; MATHEUS, M.E.; LEITÃO, S.G.; FERNANDES, P.D. Anti-inflammatory and analgesic activity of *Bouchea fluminensis*. **Fitoterapia**, v. 74, n. 4, p. 364-371, 2003

CRISTOBAL, C.L. Taxonomía del género *Helicteres* (Sterculiaceae). Revisión de las especies americanas. **Bonplandia**, v. 11, n. 1-4, p. 1-206, 2001.

CUNHA, G.O.S.; MATOS, A.P.; BERNARDO, A.R.; MENEZES, A.C.S.; BURGER, M.C.M.; VIEIRA, P.C.; FORIM, M.R.; FERNANDES, J.B.; SILVA, M.F.G.F. Chemical constituents and insecticidal activity of the *Miconia ferruginata*. **Química Nova**, v.40, n.10, p.1158-1163, 2017.

DARMALI, L; SILVA, C.B.; OCAMPOS, F.M.M.; BURCI, L.M.; NASCIMENTO, K.F.; JESUS, C.; DIAS, J.F.G.; DALLARMI, M.M.; GOMES, O.M.; ZANIN, S.M.W. Larvicidal activity of *Dalbergia brasiliensis* (Fabaceae-Papilioideae) on *Aedes aegypti*. **African Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 9, n. 35, p. 881-885, 2015.

DASTMALCHI, K.; OLLILAINEN, V.; LACKMAN, P.; AF GENNAS, G.B.; DORMAN, H.J.D.; JARVINEN, P.P.; YLI-KAUHALOUMA, J.; HILTUNEN, R. Acetylcholinesterase inhibitory guided fractionation of *Melissa officinalis* L. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 17, p. 867–871, 2009.

DAYAL, R.; SINGH, A.; OJHA, R.P.; MISHRA, K.P. Possible therapeutic potential of *Helicteres isora* (L.) and it's mechanism of action in diseases. **Journal of Medicinal Plants Studies**, v. 3, p. 95-100, 2015.

DEWICK, P. M. **Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach**. 2 ed. United Kingdom: John Wiley e Sons Ltda, 2002.

ELIAS, G.A.; SANTOS, R. Produtos florestais não madeireiros e valor potencial de exploração sustentável da Floresta Atlântica no sul de Santa Catarina. **Ciência Florestal**, v. 26, n. 1, p. 249-262, 2016.

ESTEVES, G. *Helicteres* in **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2015. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB9068>>. Acesso em: 5 dez. 2018.

GOMES, P.R.B.; SILVA, A.L.S.; PINHEIRO, H.A.; CARVALHO, L.L.; LIMA, H.S.; SILVA, E.F.; SILVA, R.P.; LOUZEIRO, C.H.; OLIVEIRA, M.B.; FILHO, V.E.M. Evaluation of the larvicidal effect of the essential oil of *Zingiber officinale* Roscoe (ginger)

against the mosquito *Aedes aegypti*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 18, n. 2, p. 597-604, 2016.

FALCÃO, D.Q. **Estudo químico e farmacológico de quatro espécies de *Hyptis* do estado do Rio Grande do Sul**. 148 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2003.

FATIMA, M.; SIDDIQUI, B. S.; BEGUM, S. New Neolignan Glucoside and New Biphenyl Ether Lignan from the Fruits of *Cordia latifolia*. **Chemistry of Natural Compounds**, v. 53, n. 3, p. 432-435, 2017.

FERHAT, M.; KABOUCHEA, Z.; FUJIMOTO, Y.; ARAYA, H. Two New Triterpenes and Other Compounds from *Mentha aquatica* (Lamiaceae). **Natural product communications**, v. 12, n. 4, p. 483-486, 2017.

FERNANDES, D. A. **Estudo fitoquímico de *Helicteres velutina* K. Schum (Sterculiaceae) e avaliação do seu potencial larvicida contra *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae)**. 136 f. Dissertação (Mestrado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa-PB, 2017.

FERNANDES, D.A; SOUZA, M.S.R; TELES, Y.C.F; OLIVEIRA, L.H.G; LIMA, J.B; CONCEIÇÃO, A.S; NUNES, F.C; SILVA, T.M.S; SOUZA, M.F.V. New Sulphated Flavonoids and Larvicidal Activity of *Helicteres velutina* K. Schum (Sterculiaceae). **Molecules**, v. 23, n. 11, p. 2784, 2018.

FERNANDES, R.S. **Espacialização da Dengue e os Efeitos dos Extratos de Anonáceas no Controle do Vetor *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae) em Tangará da Serra, Mato Grosso**. 135 f. Dissertação (Mestrado em Ciências ambientais) - Universidade do Estado de Mato Grosso, Cáceres, 2012.

FERNÁNDEZ, L.D.; PINEDA, C.C.; FRANCOIS, L.A. *Aedes* (St.) *aegypti*: relevancia entomoepidemiológica y estrategias para su control. **Revista Archivo Médico de Camagüey**, v. 15, n. 3, p. 610-625, 2011.

FERNANDEZ, M. A.; HERAS, B.; GARCIA, M. D.; SAENZ, M.T.; VILLAR, A. New insights into the mechanism of action of the antiinflammatory triterpene lupeol. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 53, n.11, p.1533-1539, 2001.

FERREIRA, F.L. **Estudo fitoquímico e avaliação da atividade biológica de extratos e constituintes das folhas de *Maytenus distichophylla* (Celastraceae)**. 119 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2014.

FORGO, P.; KÖVÉR, K.E. Gradient enhanced selective experiments in the ¹H NMR chemical shift assignment of the skeleton and side-chain resonances of stigmasterol, a phytosterol derivative. **Steroids**, v.69, n.1, p.43-50, 2004.

FREITAS, E. C.; BARROS, H. E. A.; SILVA, M. V.; MIRANDA, A. S.; SANTANA, R. F. Compostos Fenólicos e Screening da atividade antioxidante de coprodutos desidratados do *Theobroma grandiflorum*. **Revista Virtual de Química**, v. 9, n. 6, 2018.

GIALLONARDO, F.; HOLMES, E.C. Viral biocontrol: grand experiments in disease emergence and evolution. **Trends in microbiology**, v. 23, n. 2, p. 83-90, 2015.

GOHARI, A.; SAEIDNIA, S.; SHAHVERDI, A.R.; YASSA, N.; MALMIR, M.; MOLLAZADEH, K.; NAGHINEJAD, A.R. Phytochemistry and antimicrobial compounds of *Hymenocrater calycinus*. **EurAsian Journal of BioSciences**, v.3, n.9, p. 64-68, 2009.

GOIS, R. W. S. **Estudo fitoquímico e biológico de *Bauhinia acuruana* Moric.** 128 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal do Ceará. Fortaleza, 2010.

GOMES, P.R.B.; SILVA, A.L.S.; PINHEIRO, H.A.; CARVALHO, L.L.; LIMA, H.S.; SILVA, E.F.; SILVA, R.P.; LOUZEIRO, C.H.; OLIVEIRA, M.B.; FILHO, V.E.M. GOMES, R. A.; TELES, Y. C. F.; PEREIRA, F. O.; RODRIGUES, L. A. S.; LIMA, E. O.; AGRA, M. F.; SOUZA, M. F.V. Phytoconstituents from *Sidastrum micranthum* (A. St.-Hil.) Fryxell (Malvaceae) and antimicrobial activity of pheophytin a. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 51, p. 861-867, 2015.

GOVINDAN, B.; JOHNSON, A.J.; VISWANATHAN, G.; RAMASWAMY, V.; KOSHY, K.C.; BABY, S. Secondary metabolites from the unique bamboo, *Melocanna baccifera*. **Natural Product Research**, v.32, p.1-4, 2018.

GUARDA, C.; LUTINSKI, J.A.; ROMAN-JUNIOR, W.A.; BUSATO, M.A. Atividade larvicida de produtos naturais e avaliação da susceptibilidade ao inseticida temefós no controle do *Aedes aegypti* (Diptera: culicidae). **Interciencia**, v. 41, n. 4, p. 243-247, 2016.

GUARIM NETO, G. Etnobotânica da malva-branca (*Waltheria communis* a. St.-hil.-Malvaceae). **FLOVET-Boletim do Grupo de Pesquisa da Flora, Vegetação e Etnobotânica**, v. 1, n. 8, 2016.

GUILHERMINO, J. F.; QUENTAL, C.; BOMTEMPO, J. V. Sistema de Inovação em Fitomedicamentos: os desafios da gestão para o desenvolvimento de fitomedicamentos a partir da biodiversidade brasileira. **Revista Fitos Eletrônica**, v.7, n.3, p. 169-184, 2012.

GUIZZO, P. L.; BREDDA, T. C. C.; SCARPA, M. V. C.; NAVARRO, F. F. Controle de qualidade e triagem fitoquímica da droga vegetal das folhas de *Morus nigra* L. (Moraceae). **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 36, n. 2, p. 259-265, 2015.

GUO, X., AN, L., XU, D., MA, L., GU, L. New triterpenoids from *Helicteres angustifolia*. **Chem. J. Chinese U**, v. 24, n. 2022-2023, 2003a.

GUO, X.D., AN, L.K., XI, D., MA, L., GU, L.Q. Chemical constituents of *Helicteres angustifolia* Linn. **J. Sun Yat-sen Univ., Nat. Sci. Ed.**, v.42, n.52-55, 2003b.

GUO, X.D., HUANG, Z., BAO, Y.D., GU, L.Q. Two new sesquiterpenoids from *Helicteres angustifolia*. **Chin. Chem. Lett.**, v.16, n.49-52, 2005.

HAMDY, R.; SHAMSO, E. Pollen Morphology of Sterculiaceae (s. str.) in Egypt and its Taxonomic Significance. **Egyptian Journal of Botany**, v. 50, p. 103-117, 2010.

HARDE, P.A., SHAH, D.R., SUHAGIA, B.N., SHAH, M.B. Development and Validation of an HPTLC Method for the Analysis of Oleanolic Acid from the Roots of *Helicteres isora* Linn. **JPC-J. Planar Chromat.**, v.24, n.503-506, 2011.

HARDE, P.A., SHAH, M.B. Pharmacognostic Studies and HPLC Analysis of Roots of *Helicteres isora* (L.). **Pharmacogn. J.**, v.9, n.523-527, 2017.

HUAMAN, M.A.L. Método preparativo para la obtención de ácido ursólico a partir de *Clinopodium revolutum*. **Revista Colombiana de Química**, v.47, n.1, p.10-15, 2018.

JAIN, P.S., BADGUJAR, V.B., PATIL, R.R., HASWANI, N.G., CHAUDHARI, S.G. Quantitative determination of β -sitosterol from stem bark of *Helicteres isora* Linn. **J. Pharm. Res.**, v.2, n.1397-1398, 2009.

JEFFREYS, M.F.; NUNEZ, C.V. Triterpenes of leaves from *Piranhea trifoliata* (Picrodendraceae). **Acta Amazonica**, v. 46, n. 2, p. 189-194, 2016.

KAMIYA, K., SAIKI, Y., HAMA, T., FUJIMOTO, Y., ENDANG, H., UMAR, M., SATAKE, T. Flavonoid glucuronides from *Helicteres isora*. **Phytochemistry**, v.57, n.297-301, 2001.

KaweetriPOB, W.; MAHIDOL, C.; PRAWAT, H.; RUCHIRAWAT, S. Lupane, friedelane, oleanane, and ursane triterpenes from the stem of *Siphonodon celastrineus* Griff. **Phytochemistry**, v. 96, p. 404-417, 2013.

KONDO, S.; EL OMRI, A.; HAN, J.; ISODA, H. Antidepressant-like effects of rosmarinic acid through mitogen-activated protein kinase phosphatase-1 and brain-derived neurotrophic factor modulation. **Journal of Functional Food**, v. 14, p. 758–766, 2015.

KONNO, T.U.P.; FERNANDES-JÚNIOR, A.J. Malvaceae do Parque Estadual do Ibitipoca, Estado de Minas Gerais, Brasil. **Hoehnea**, v.77, p. 505-523, 2017.

KRINSKI, D.; MASSAROLI, A.; MACHADO, M. Potencial inseticida de plantas da Família Annonaceae. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 36, p. 225-242, 2014.

KUO, S. C.; CHUNG, H. H.; HUANG, C. H.; CHENG, J. T. Decrease of hyperglycemia by syringaldehyde in diabetic rats. **Hormone and Metabolic Research**, v. 46, n. 01, p. 8-13, 2014.

LASZCZYK, M.N. Pentacyclic triterpenes of the lupane, oleanane and ursane group as tools in cancer therapy. **Planta médica**, v. 75, n. 15, p. 1549-1560, 2009.

LI, G-S.; JIANG, W-L.; TIAN, J-W.; QU, G-W.; ZHU, H-B.; FU, F-H. *In vitro* and *in vivo* antifibrotic effects of rosmarinic acid on experimental liver fibrosis. **Phytomedicine**, v. 17, p. 282–288, 2010.

LIMA, N.; SANTOS, V.; LA PORTA, F.A. Quimiodiversidade, Bioatividade e Quimiosistemática do gênero *Inga* (Fabaceae): Uma breve Revisão. **Revista Virtual de Química**, v.10, n. 3, 2018.

LIU, J.; LI, W.; JIANG, S.; GUO, Y.; WANG, G.; LIN, R. Phenolic acids and antioxidant activities of Danshen Injection. **Chemistry of natural compounds**, v. 50, n. 1, p. 83-87, 2014.

LIU, W. G.; WANG, M. S. Structure determination of three new triterpenoids from *Helicteres angustifolia* Linn. **Acta Pharmaceutica Sinica**, v.20, n.11, p.842, 1985.

LUCENA, H.F.S. **Uma nova lignana e outros constituintes químicos de *Hyphenia salzmannii* (Benth.) Harley (Lamiaceae)**. 168 f. Dissertação (Mestrado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2012.

LUO, Y., XU, Q-L., DONG, L.M., ZHOU, Z.Y., CHEN, Y.C., ZHANG, W.M., TAN, Y.W. A new ursane and a new oleanane triterpene acids from the whole plant of *Spermacoce latifolia*. **Phytochemistry Letters**, v. 11, p. 127-131, 2015.

MACIEL, J.K.S.; CHAVES, O.S.; ASSIS, T.S.; FERNANDES, P.D.; ANDRADE, A.P.; FELIX, L.P.; SILVA, T.M.S.; RAMOS, N.S.M.; SILVA, G.R.; SOUZA, M.F.V. New Alcamide and Anti-oxidant Activity of *Pilosocereus gounellei* A. Weber ex K. Schum. Bly. ex Rowl. (Cactaceae). **Molecules**, v. 21, n.11, p. 1-13, 2016.

MACIEL, M.V.; MORAIS, S.M.; BEVILAQUA, C.M.L.; AMORA, S.S.A. Extratos vegetais usados no controle de dípteros vetores de zoonoses. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.12, n.1, p.105-112, 2010.

MADEIRO, A. A. S.; LIMA, C. R. Estudos etnofarmacológicos de plantas medicinais utilizadas no Brasil—Uma revisão sistemática. **Caderno de Graduação-Ciências Biológicas e da Saúde-UNIT-ALAGOAS**, v. 3, n. 1, p. 69-76, 2015.

MAGALHÃES, M.S. **Avaliação da atividade larvicida do extrato hidroalcoólico da espécie *Anacardium occidentale* Linneu**. 60 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal do Amapá, Macapá, 2015.

MAHATO, S.B.; KUNDU, A. P. ¹³C NMR spectra of pentacyclic triterpenoids—a compilation and some salient features. **Phytochemistry**, v. 37, n. 6, p. 1517-1575, 1994.

MARTÍNEZ, A. L., GONZÁLEZ-TRUJANO, M. E., CHÁVEZ, M., PELLICER, F. Antinociceptive effectiveness of triterpenes from rosemary in visceral nociception. **Journal of Ethnopharmacology**, 142, p. 28–34, 2012.

MEIRA-NETO, R. A.; ALMEIDA, S. S. M. S. Avaliação fitoquímica, microbiológica e citotóxica das folhas de *Gossypium arboreum* L. (Malvaceae). **Biota Amazônia**, v. 5, n. 2, p. 18-22, 2015.

MENDONÇA, T. A.; DANTAS, E. A.; GOUVEA, A. A. L.; OLIVEIRA, R. S.; ALVES, A. R. C.; PADILHA, F. F.; MACHADO, B. A. S. Prospecção Tecnológica sobre a Utilização de Cacau Fino. **Revista Virtual de Química**, v. 8, n. 4, p. 1094-1103, 2016.

MIRANDA, M. L.; GARCEZ, F. R.; GARCEZ, W. S. Triterpenos e outros constituintes dos frutos de *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong (Fabaceae). **Revista Virtual de Química**, v. 7, n. 6, p. 2597-2605, 2015.

MIRANDA, R. R. S.; SILVA, G. D. F.; DUARTE, L. P.; FORTES, I. C. P.; FILHO, S. V. Structural determination of 3β -stearyloxy-urs-12-ene from *Maytenus salicifolia* by 1D and 2D NMR and quantitative ^{13}C NMR spectroscopy. **Magnetic Resonance in Chemistry**, v. 44, n. 2, p. 127-131, 2006.

MIRANDA, R.R.S.; SILVA, G.D.F.; DUARTE, L.P.; FORTES, I.C.P.; VIEIRA FILHO, S. A.MONTEIRO, L.C.C.F.; ARAÚJO, E.I.M.; OLIVEIRA, A.M.S.; ALVES, L.A.; BERTINI, L.M. Atividade antioxidante, teor de fenóis e atividade larvicida ao *Aedes aegypti* de *Vitex gardneriana* Schauer. **Blucher Chemical Engineering Proceedings**, v.3, 2015.

MOSTARDEIRO, C. P. **Avaliação das propriedades farmacológicas e farmacogenéticas do extrato e frações da planta *Pavonia xanthogloea* (Malvaceae)**. 140 f. Tese (Doutorado em Farmacologia) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria-RS, 2014.

MUTHUKRISHMAN, J.; PUSHPALATHA, E. Effects of plant extracts on fecundity and fertility of mosquitoes. **Journal Applied Entomology**, v.125, p.31-5, 2001.

NAVARRETE, A.; TREJO- MIRANDA, I. J.; REYES-TREJO, L. Principles of root bark of *Hippocratea excelsa* (Hippocrataceae) with gastroprotective activity. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 79, n.3, p.383388, 2002.

NGUYEN, T.T., GAO, X., NIKLES, S., PFERSCHY-WENZING, E.M., KUNERT, O., BAUER, R. Activity-guided isolation of anti-inflammatory constituents from the aerial parts of the vietnamese medicinal plant *Helicteres hirsuta* Lour. **Reviews of clinical pharmacology and drug therapy**, v.15, n.48, 2017.

NONO, R.N.; BARBONI, L.; TEPONNO, R.B.; QUASSINTI, L.; BRAMUCCI, M.; VITALI, L.A.; PETRELLI, D.; LUPIDI, G.; TAPONDJOU, A.L. Antimicrobial, antioxidant, anti-inflammatory activities and phytoconstituents of extracts from the roots of *Dissotis thollonii* Cogn. (Melastomataceae). **South African Journal of Botany**, v.93, p.19-26, 2014.

NUNES, F.C. **Estudo da atividade larvicida da *Agave sisalana* contra larvas de *Aedes aegypti***. 113 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa- PB, 2013.

NUNES, F.C.; LEITE, J.A.; OLIVEIRA, L.H.G.; SOUSA, P.A.P.S.; MENEZES, M.C.; MORAES, J.P.S.; SANDRA R. MASCARENHAS, S.R.; BRAGA, V.A. The larvicidal activity of *Agave sisalana* against L4 larvae of *Aedes aegypti* is mediated by internal necrosis and inhibition of nitric oxide production. **Parasitology research**, v. 114, n. 2, p. 543-549, 2015.

OLENNIKOV, D. N.; DAIRONAS, Zh V.; ZILFIKAROV, I. N. Shikonin and Rosmarinic-Acid Derivatives from *Echium russicum* Roots. **Chemistry of Natural Compounds**, v. 53, n. 5, p. 953-955, 2017.

OLIVAS-QUINTERO, S., LÓPEZ-ÂNGULO, G., MONTES-AVILA, J., DÍAZ-CAMACHO, S.P., VEGA-AVIÑA, R., LÓPEZ-VALENZUELA, J.Á., SALAZAR-SALAS, N.Y., DELGADO-VARGAS, F. Chemical composition and biological activities of *Helicteres vegae* and *Heliopsis sinaloensis*. **Pharmaceutical Biology**, v.55, 1473-1482, 2017.

OLIVAS-QUINTERO, S., LÓPEZ-ÂNGULO, G., MONTES-AVILA, J., DÍAZ-CAMACHO, S.P., VEGA-AVIÑA, R., LÓPEZ-VALENZUELA, J.Á., SALAZAR-SALAS, N.Y., DELGADO-VARGAS, F. Chemical composition and biological activities of *Helicteres vegae* and *Heliopsis sinaloensis*. **Pharm. Biol.**, v.55, n.1473-1482, 2017.

OLIVEIRA, D.M. **Estudo químico, farmacológico e aplicação de métodos computacionais na elucidação estrutural de constituintes químicos de folhas de *Maytenus acanthophylla* Reissek (Celastraceae)**. 286 f. Tese (Doutorado em Ciências - Química) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2012.

OLIVEIRA, F. S.; RIBEIRO, A.; CALHELHA, R. C.; JUNIOR, B. D.; BARREIRO, M. F.; FERREIRA, I. C. Potencial anti-angiogénico de iogurtes com extratos ricos em derivados de apigenina. In: Encontro de jovens investigadores do instituto politécnico de Bragança, 3., 2015, Bragança. **Anais eletrônicos...** Disponível em: <<https://bibliotecadigital.ipb.pt/bitstream/10198/12646/3/Oral%20Nac.%2072.pdf>>. Acesso em: 15 de jun. 2016.

OLIVEIRA, G.L.; CARDOSO, S.K.; LARA JÚNIOR, C.R.; VIEIRA, T.M.; GUIMARÃES, E.F.; FIGUEIREDO, L.S.; ERNANE R. MARTINS, E.R.; MOREIRA, D.L.; KAPLAN, M.A.C. Chemical study and larvicidal activity against *Aedes aegypti* of essential oil of *Piper aduncum* L. (Piperaceae). **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 85, n. 4, p. 1227-1234, 2013.

OLIVEIRA, L.O. **Atividade antimalárica e inseticida de extratos de *Azadirachta indica* A. Juss. Introduzida no município de Boa Vista, Roraima**. 73 f. Dissertação (Mestrado em Bioprospecção), Boa vista, RR, 2013.

OLIVEIRA, N.C.D.; SARMENTO, M.S.; NUNES, E.A.; PORTO, C.M.; ROSA, D.P.; BONA, S.R.; RODRIGUES, G.; MARRONI, N.P.; PEREIRA, P.; PICADA, J.N.; FERRAZ, A.B.F.; THIESEN, F.V.; DA SILVA, J. Rosmarinic acid as a protective agent against genotoxicity of ethanol in mice. **Food and Chemical Toxicology**, v. 50, p. 1208–1214, 2012.

PAGI, K.B., LAHIRI, S.K., YADAV, G.K., SHAH, M.B. Development and validation of HPTLC method for determination of betulinic acid in *Helicteres isora* root extract. **Int. J. ChemTech Res.**, v. 2, n. 851-855, 2010.

PAN, M.H., CHEN, C.M., LEE, S.W., CHEN, Z.T. Cytotoxic triterpenoids from the root bark of *Helicteres angustifolia*. **Chem. Biodivers**, v. 5, n. 565-574, 2008.

PAVARINI, D.P.; LOPES, N.P. A Ecologia Química e a Biossíntese dos Terpenos Voláteis das “Arnica-da-Serra” (*Lychnophora* spp.). **Revista Virtual de Química**, v. 8, n. 1, p. 242-261, 2016.

PAVIA, D.L.; LAMPMAN, G.M.; KRIZ, G.S.; VYVYAN, J.R. Introdução à Espectroscopia. 4 ed. São Paulo: Cengage Learning, 2015.

PEREIRA, R. J; CARDOSO, M. G. Metabólitos secundários vegetais e benefícios antioxidantes. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v. 3, n. 4, p. 146-152, 2012.

PHAM, H.N.T., NGUYEN, V.T., VUONG, Q.V., BOWYER, M.C., SCARLETT, C.J. Bioactive compound yield and antioxidant capacity of *Helicteres hirsuta* Lour. stem as affected by various solvents and drying methods. **Journal of Food Processing and Preservation**, v.41, p.1745-4549, 2017.

POLLIER, J.; GOOSSENS, A. Oleanolic acid. **Phytochemistry**, v. 77, p. 10-15, 2012.

PONTUAL, E.V. **Extrato de flores de *Moringa oleifera*: atividade larvícida e efeito sobre tripsina e acetilcolinesterase de larvas de *Aedes aegypti***. 2010. Dissertação (Mestrado em Bioquímica e Fisiologia) -Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2010.

PORDEUS, S. M. **Estudo taxonômico e síndrome de dispersão de Malvoideae Burnett (Malvaceae) no agreste Paraibano, Nordeste do Brasil**. 100 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Conservação) – Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande – PB, 2016.

QUIRINO, T. F. **Avaliação do potencial inseticida de solução de *Nicotiana tabacum* L.(solanacea) para o controle de *Aedes aegypti* (L.)(Díptera: culicidae)**. 54 f.. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Biologia) - Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2010.

RAMALHO, C. I.; ANDRADE, A. P.; FÉLIX, L. P.; LACERDA, A. V.; MARACAJÁ, P. B. Flora arbóreo-arbustiva em áreas de caatinga no semiárido baiano, Brasil. **Revista Caatinga**, v. 22, n. 3, p. 178-186, 2009.

RAMESH, P., YUVARAJAN, C.R. A new flavone methyl ether from *Helicteres isora*. **J. Nat. Prod.**, v.58, n.1242-3, 1995.

RAO, B. G.; RAO, Y. V.; RAO, T. M. Hepatoprotective and antioxidant capacity of *Melochia corchorifolia* extracts. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, v. 6, n. 7, p. 537-543, 2013.

RASHED, K.; ĆIRIĆ, A.; GLAMOČLIJA, J.; CALHELHA, R.C.; FERREIRA, I.C.F.R.; SOKOVIĆ, M. Antimicrobial and cytotoxic activities of *Alnus rugosa* L. aerial parts and identification of the bioactive components. **Industrial Crops and Products**, v.59, p.189-196, 2014.

ROCHA, J.; FIGUEIRA, M.E.; BARATEIRO, A.; FERNANDES, A.; BRITES, D.; BRONZE, R.; DUARTE, C.M.M.; SERRA, A.T.; PINTO, R.; FREITAS, M.; FERNANDES, E.; SILVA-LIMA, B.; MOTA-FILIPPE, H.; SEPODES, B. Anti-inflammatory effect of rosmarinic acid and an extract of *Rosmarinus officinalis* in rat models of local and systemic inflammation. **Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology**, v. 116, p. 398–413, 2015.

SALEEM, M.; ALAM, A.; ARIFIN, S.; SHAH, M. S.; AHMED, B.; SULTANA, S. Lupeol, a triterpene, inhibits early responses of tumor promotion induced by benzoyl peroxide in urine skin. **Pharmacological Research**, v. 43, n.2, p.127-134, 2001.

SALLES, R. C. O. **Estudo químico e de atividade biológica Comparativo do látex do leite de amapá extraído de duas espécies botânicas distintas**. 201 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2013.

- SANTANA, H.T. **Estudo Fitoquímico de *Piper alatabaccum* Trel & Yunck, 1950 e Avaliação da Atividade Larvicida Sobre *Aedes aegypti* Linnaus, 1762 (Diptera: Culicidae) em Condições de Campo Simulado.** 90 f. Mestrado, Pós-graduação em Biologia experimental, Universidade Federal de Rondônia, Porto Velho, Brasil, 2012.
- SANTOS, A.E. **Avaliação do potencial antioxidante e caracterização química das frações cromatográficas e extrato etanólico das folhas de *Bauhinia longifolia* (Bong.) Steudel.** Trabalho de Conclusão de Curso (Licenciatura em Química) Luz, MG, Brasil, 2008.
- SANTOS, E. A.; CARVALHO, C. M.; COSTA, A. L. S.; CONCEIÇÃO, A. S.; MOURA, F. B. P.; SANTANA, A. E. G. Bioactivity Evaluation of Plant Extracts Used in Indigenous Medicine against the Snail, *Biomphalaria glabrata*, and the Larvae of *Aedes aegypti*. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 1, n.1, p.1-9, 2012.
- SANTOS, M.A.S. **Síntese de ésteres derivados de triterpenos e Esteroides com potencial atividade biológica.** 242 f. Tese (Doutorado em Química) – Univerisidade Federal da Bahia. Salvador, BA, 2015.
- SATAKE, T., KAMIYA, K., SAIKI, Y., HAMA, T., FUJIMOTO, Y., KITANAKA, S., KIMURA, Y., UZAWA, J., ENDANG, H., UMAR, M. Studies on Jamu and the medicinal resources in Indonesia. Part 2. Studies on the constituents of fruits of *Helicteres isora* L. **Chem. Pharm. Bull.**, v.47, n.1444-1447, 1999.
- SILVA, A. T. M.; MAGALHÃES, C. G.; DUARTE, L. P.; MUSSEL, W. N.; RUIZ, A. L. T. G.; SHIOZAWA, L.; CARVALHO, J. E.; TRINDADE, I.C.; VIEIRA FILHO, S. A. Lupeol and its esters: NMR, powder XRD data and in vitro evaluation of cancer cell growth. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 53, n. 3, 2017.
- SILVA, C. A.; FERREIRA, D. S.; KOCH, A. K.; ARAÚJO-SILVA, L. E. Variação na arquitetura floral e sucesso reprodutivo de duas espécies de *Helicteres* (Malvaceae), na região sudoeste de Mato Grosso. **Acta Botanica Brasilica**, v. 24, n. 2, 2010.
- SILVA, D. A.; ALVES, V. G.; FRANCO, D. M. M.; RIBEIRO, L. C.; SOUZA, M. C.; KATO, L.; CARVALHO, J. E.; KOHN, L. K.; OLIVEIRA, C. M. A.; SILVA, C. C. Antiproliferative activity of *Luehea candicans* Mart. et Zucc.(Tiliaceae). **Natural Product Research**, v. 26, n. 4, p. 364-369, 2012.
- SILVA, F.C.; DUARTE, L.P.; VIEIRA FILHO, S.A. Celastráceas: fontes de triterpenos pentacíclicos com potencial atividade biológica. **Revista Virtual de Química** v.6, n.5, 2014.
- SILVA, F.O.; OLIVEIRA, I.R.; SILVA, M.G.V.; BRAZ-FILHO, R. Constituintes químicos das folhas de *Senna spectabilis* (DC) IRWIN & BARNEBY var. *excelsa* (Schrad.) IRWIN & BARNEBY. **Química Nova**, v. 33, n. 9, p. 1874-1876, 2010.
- SILVA, M.R.M. **Malvaceae s.l. Juss. Serra Negra, Minas Gerais, Brasil.** 178 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia aplicada ao manejo e conservação de recursos naturais) – Universidade Federal de Juiz de Fora. Juiz de Fora, MG, 2014.
- SILVA, S.L.C.E.; GUALBERTO, S.A.; CARVALHO, K.S.; FRIES, D.D. Avaliação da atividade larvicida de extratos obtidos do caule de *Croton linearifolius* Mull. Arg.

(Euphorbiaceae) sobre larvas de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae). **Biotemas**, v. 27, n. 2, pp. 79-85, 2014.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6. ed. Porto alegre: Editora da UFSC e UFRGS, 2010.

SINGH, S.B., SINGH, A. K., THAKUR, R.S. Chemical constituents of the leaves of *Helicteres isora*. **Indian J. Pharm. Sci.**, v.46, n.148-9, 1984.

SINNIAH, B. Insecticidal effect of aliphatic alcohols against aquatic stages of *Aedes* mosquitoes. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v.77, p.35–38, 1983.

SINNIAH, B.; SINNIH, D.; IBRAHIM, J. Effect of neem oil and mosquito larvae. **Mosquito Borne Disease Bull**, v.1, p.90-3, 1994.

SOUZA, A. D. L.; DA ROCHA, A. F. I.; PINHEIRO, M. L. B.; ANDRADE, C. H. DE S.; GALOTTA, A. L. DE A. Q.; DOS SANTOS, M. DO P. S. S. Constituintes químicos de *Gustavia augusta* L. (Lecythidaceae). **Química Nova**, v.24, n. 4, p. 439, 2001.

SOUZA, A.C.; ALVES, M.M.M; BRITO, L.M; OLIVEIRA, L.G.C; PEREIRA, E.P.C; COSTA, I.C.G; FREITAS, S.D.L; RODRIGUES, K.A.F; CHAVES, M.H; ARCANJO, D.D.R; CARVALHO, F.A.A. *Platonia insignis* Mart., a Brazilian Amazonian Plant: The Stem Barks Extract and Its Main Constituent Lupeol Exert Antileishmanial Effects Involving Macrophages Activation. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2017.

STITI, N.; TRIKI, S.; HARTMANN, M.A. Formation of triterpenoids throughout *Olea europaea* fruit ontogeny. **Lipids**, v. 42, n. 1, p. 55-67, 2007.

SU, D., GAO, Y. Q., DAI, W. B., HU, Y., WU, Y. F., MEI, Q. X. Helicteric acid, oleanic acid, and betulinic acid, three triterpenes from *Helicteres angustifolia* L., inhibit proliferation and induce apoptosis in HT-29 colorectal cancer cells via suppressing NF-κB and STAT3 Signaling. **Evid-Based Compl. Alt**, 2017.

TAKEUCHI, C.; ESTEVES, G. L. Taxonomic revision of *Gaya Kunth* (Malvoideae, Malvaceae) in Brazil. **Hoehnea**, v. 44, n. 1, p. 44-69, 2017.

TELES, Y. C. F.; RIBEIRO-FILHO, J.; BOZZA, P. T.; AGRA, M. F.; SIHERI, W.; I, JOHN O.; GRAY, A. I.; SOUZA, M. F. V. Phenolic constituents from *Wissadula periplocifolia* (L.) C. Presl. and anti-inflammatory activity of 7,4--di- O -methylisoscutearein. **Natural Product Research**, v. 7, p. 1-5, 2015.

TELES, Y.C.; GOMES, R.A.; OLIVEIRA, M.S., LUCENA, K.L.; NASCIMENTO, J.S.; AGRA, M.F.; IGOLI, J.O.; GRAY, A.I.; SOUZA, M.F.V. Phytochemical investigation of *Wissadula periplocifolia* (L.) C. Presl and evaluation of its antibacterial activity. **Química nova**, v. 37, n. 9, p. 1491-1495, 2014.

TEZUKA, Y., TERAZONO, M., KUSUMOTO, T. I., KAWASHIMA, Y., HATANAKA, Y., KADOTA, S., HATTORI, M., NAMBA, T., KIKUCHI, T., TANAKA, K., SUPRIYATNA, S. Helisterculins A and B, Two New (7.5', 8.2')-Neolignans, and Helisorin, the First (6.4', 7.5', 8.2')-Neolignan, from the Indonesian Medicinal Plant *Helicteres isora*. *Helv. Chim. Acta*, v.82, n.408-417, 1999.

TIBURSKI NETO, A. *Lupinus lanatus* Benth, *Lupinus guaraniticus* (Hassl.) C. P. Sm., *Lupinus paranensis* C. P. Sm. (Fabaceae) e *Waltheria douradinha* Saint Hilaire (Sterculiaceae): Isolation and Identification of Biological Activity and its Metabolites. 255 f. Tese (Doutorado em Química) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2015.

TRINDADE, F.T.T. **Avaliação do potencial larvicida de *Garcinia gardneriana* (Bacuri) e sua relação com características do Habitat larval de *Anopheles darlingi* (Diptera: Culicidae) em laboratório.** 59 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Experimental) - Departamento de Medicina, Universidade Federal de Rondônia. Porto Velho – RO, 2012.

UDDIN, G. H. W.; SIDDIQUI, B. S. H.; ALAM, M.; SADAT, A.; AHMAD, A.; UDDIN, A. Chemical constituents and phytotoxicity of solvent extracted fractions of stem bark of *Grewia optiva* Drummond ex burret. *Middle-East. J Sci Res*, v. 8, p. 85-91, 2011.

VIANA, F. F. O. **Avaliação da atividade larvicida de extratos obtidos da parte aérea de *Aspidosperma pyrifolium* sobre *Aedes aegypti*.** 2015. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais) - Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – Itapetinga, BA.

VORIS, D.G.D.R.; AFONSO, C.H.; ALMEIDA FILHO, C. A.; FERNANDES, C.O.; BRITO, D.Q.; MORAES, C.S.; LIMA, K.S.C.; LIMA, J.B.P.; MIRANDA, M.G.; LIMA, A.L.S.L.; AVELAR, K.E.S.; FRIEDE, R.; LIMA, A.L.S. Estudos etnofarmacológicos de óleos essenciais com atividade larvicida contra o mosquito *Aedes aegypti*. *Semioses*, v. 11, n. 1, p. 86-94, 2017.

WANG, G.C., LI, T., WEI, Y.R., ZHANG, Y.B., LI, Y.L., SZE, S.C.W., YE, W.C. Two pregnane derivatives and a quinolone alkaloid from *Helicteres angustifolia*. *Fitoterapia*, v.83, 1643-1647, 2012.

WANG, X.; YE, X.-L.; LIU, R.; CHEN, H.-L.; BAI, H.; LIANG, X.; ZHANG, X.-D.; WANG, Z.; LI, W.-L.; HAI, C.-X. Antioxidant activities of oleanolic acid in vitro: possible role of Nrf2 and MAP kinases. *Chemico-biological interactions*, v. 184, n. 3, p. 328-337, 2010.

WEI, Y., WANG, G., ZHANG, X., WANG, Y., YE, W. Studies on chemical constituents in roots of *Helicteres angustifolia*. *China J. Chin. Mater. Med.* v.36, n.1193-1197, 2011.

WHO - World Health Organization. **Insecticide resistance and vector control.** WHO Technical Reports Series. WHO, Geneva, 1970.

WOLDEMICHAEL, G. M.; WÄCHTER, G.; SINGH, M. P.; MAIESE, W. M.; TIMMERMAN, B. N. Antibacterial Diterpenes from *Calceolaria pinifolia*. *Journal of Natural Products*, v. 66, n. 2, p. 242-246, 2003.

YADIKAR, N.; BOBAKULOV, K.; LI, G.; AISA, H.A. Seven new phenolic compounds from *Lavandula angustifolia*. **Phytochemistry Letters**, v. 23, p. 149-154, 2018.

YIN, X., LU, Y., CHENG, Z. H., CHEN, D. F. Anti-Complementary Components of *Helicteres angustifolia*. **Molecules**, v. 21, n.1506, 2016.

YOSHIKAWA, V, N.; DUARTE, M, C. Estudo taxonômico de Malvaceae no Parque Natural Municipal Francisco Affonso de Mello, Mogi das Cruzes, SP. **Revista Científica Universidade de Mogi das Cruzes**, v. 2, n. 2, 2017.

ZAPPI, D. C.; FILARD, F. L. R.; LEITMAN, P.; SOUZA, V. C.; WALTER, B. M. T.; PIRANI, J. R.; MORIM, M. P.; QUEIROZ, L. P.; CAVALCANTI, T. B.; MANSANO, V. F.; FORZZA, R. C. Growing knowledge: an overview of Seed Plant diversity in Brazil. **Rodriguésia**, v. 66, n. 4, p. 1085-1113, 2015.

ZARA, A.L.D.S.A.; SANTOS, S.M.D.; FERNANDES-OLIVEIRA, E.S.; CARVALHO, R.G.; COELHO, G.E. Estratégias de controle do *Aedes aegypti*: uma revisão. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 25, p. 391-404, 2016.